

CIBELE DOS SANTOS GONZALEZ VARGAS

TÍTULOS DE ANTICORPO DA CLASSE IgG

ANTI - *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1908) E DE OOCISTOS
EM FEZES DE GATOS DE RUA (*Felis catus* – LINNAEUS, 1758) EM CURITIBA,
PARANÁ.

Dissertação apresentada como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre em
Ciências Veterinárias, Curso de Pós-
Graduação em Ciências Veterinárias, Setor de
Ciências Agrárias da Universidade Federal
do Paraná. Área de Concentração: Patologia

Orientador: Prof. Dr. Ennio Luz

Curitiba

2006



PARECER

A Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação da Candidata ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária CIBELE DOS SANTOS GONZALEZ VARGAS após a realização desse evento, exarou o seguinte Parecer:

- 1) A Dissertação, intitulada "TÍTULOS DE ANTICORPO DA CLASSE IgG ANTI - *Toxoplasma gondii* (NICOLLE & MANCEAUX, 1908) E DE OOCISTOS EM FEZES DE GATOS DE RUA (*Felis catus* - LINNAEUS, 1758) EM CURITIBA, PARANÁ" foi considerada, por todos os Examinadores, como um louvável trabalho, encerrando resultados que representam importante progresso na área de sua pertinência.
- 2) A Candidata apresentou-se muito bem durante a Defesa de Dissertação, respondendo a todas as questões que foram colocadas.

Assim, a Comissão Examinadora, ante os méritos demonstrados pela Candidata, e de acordo com o Art. 78 da Resolução nº 62/03 - CEPE considerou a candidata APROVADA concluindo que faz jus ao Título de Mestre em Ciências Veterinárias, Área Patologia Veterinária.

Curitiba, 31 de maio de 2006.

Prof. Dr. Ennio Luz
Presidente/Orientador

Prof. Dr. Alexander Welker Biondo
Membro

Prof. Dr. Luiz Carlos Leite
Membro

AGRADECIMENTO

Dentre as muitas formas de agradecer, a mais tocante e eficiente continua sendo o MUITO OBRIGADO. Duas palavras que encerram outros sentimentos que alimentam nossas esperanças, engrandecem nossas existências e se misturam aos nossos relacionamentos.

ENNIOLUZSILVANACIROLUIZLEITE CONSIDERAÇÃO
ALEXANDERBIONDOORAÇÕESMARILENEROSE
ALESSANDRAALVARESBOA VONTADEMARÚCIA CRUZ
CRISTINAAMIZADEGATOSMILROSÁRIAMARIAANGELA
LUPOPPEANDROELDACARMEMSOLIDARIEDADE
ALEXMAIORCALIVMIARACUMPLICIDADEJULIANO
HOFFMANNNATHALIAPACIÊNCIALABORATÓRIO
ZONOSSESUNESPBOTUCATU AMORMARIAJOSÉ
SIMONEBIBLIOTECÁRIAUFPRDEDICAÇÃOANAXEROX
DRDENNISHCCORDIALIDADESOSBÍCHOPESSOAL
PREFEITURADECURITIBAFÉLIZETEGONZALEZFORÇA
LUIMIRGONZALEZCARINHOFERNANDOVARGASAPOIO
MILENAVARGASNATHALIAVARGAS DICASPRITENFEN
E TODOS AQUELES QUE ESTIVERAM DO MEU LADO,
TANTO DE PERTO, QUANTO DE LONGE, HOJE E SEMPRE.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	v
LISTA DE TABELAS	v
RESUMO	vi
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO	01
2. REVISÃO DE LITERATURA	03
2.1. HISTÓRICO	03
2.2. CICLO BIOLÓGICO DO <i>Toxoplasma gondii</i>	04
2.3. EPIDEMIOLOGIA	08
2.4. FATORES DE RISCO	10
2.5. PATOGÊNESE	11
2.5.1. Toxoplasmose e Gestação	15
2.5.2. Toxoplasmose Pós-natal	18
2.6. TOXOPLASMOSE E ALIMENTOS	20
2.7. TOXOPLASMOSE E ÁGUA	22
2.8. TOXOPLASMOSE E VACINA	23
2.9. O PAPEL DO GATO	25
2.10. TOXOPLASMOSE E OOCISTOS	26
2.11. TOXOPLASMOSE E PREVENÇÃO	28
2.12. TOXOPLASMOSE E SOROLOGIA	29
3. MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1. CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS ESTUDADOS	30
3.1.1. Gatos do Albergue – Grupo 1	31
3.1.2. Gatos encaminhados pela ONG – Grupo 2	32
3.2. COLHEITA DE FEZES	32
3.3. COLHEITA DE SANGUE	33
3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	34
4. RESULTADOS	34
4.1. RESULTADOS DOS EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS	34
4.2. RESULTADOS DOS EXAMES DE SANGUE	34
5. DISCUSSÃO	37
6. CONCLUSÕES	43
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
8. ANEXOS	51
9. APÊNDICES	56

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 - CISTO COM BRADIZOÍTOS	05
FIGURA 02 - TAQUIZOÍTOS	05
FIGURA 03 - OOCISTO ESPORULADO	05
FIGURA 04 - CICLO BIOLÓGICO DO <i>T. GONDII</i>	07
FIGURA 05 - VIAS DE TRANSMISSÃO	09
FIGURA 06 - TAQUIZOÍTOS PRÓXIMOS A MONÓCITOS	12
FIGURA 07 - ABSCESSO CEREBRAL CAUSADO POR <i>T. GONDII</i>	13
FIGURA 08 - MOTILIDADE DO <i>T. GONDII</i> E CAPACIDADE DE INVASÃO DA CÉLULA	14
FIGURA 09 - GATOS EM RECINTO DO ALBERGUE	31
FIGURA 10 - GATOS DO ALBERGUE EM GAIOLAS	31
FIGURA 11 - FILHOTES NO ALBERGUE	32
FIGURA 12 - VENOPUNÇÃO JUGULAR	33
FIGURA 13 - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO DOS SOROS POSITIVOS SEGUNDO A TITULAÇÃO	36
FIGURA 14 - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS POSITIVAS POR FAIXA ETÁRIA DOS ANIMAIS	36
FIGURA 15 - OOCISTO ESPORULADO DE <i>T. GONDII</i>	52
FIGURA 16 - OOCISTO NÃO ESPORULADO DE <i>T. GONDII</i>	52
FIGURA 17 - OOCISTO DE <i>I. FELIS</i>	52
FIGURA 18 - RIFI POSITIVA	55
FIGURA 19 - RIFI NEGATIVA	55

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ENVOLVIMENTO DE OOCISTOS EM MANIFESTAÇÃO DE TOXOPLASMOSE EM HUMANOS. FONTE SUSPEITA: ÁGUA	23
TABELA 2 - DURAÇÃO DA INFECTIVIDADE DE OOCISTOS DE <i>T. GONDII</i> SOB CONDIÇÕES AMBIENTAIS (AMBIENTE FECHADO)	27
TABELA 3 - APRESENTAÇÃO DE TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI- <i>T. GONDII</i> EM GATOS, CONFORME A IDADE	35
TABELA 4 - FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI <i>T. GONDII</i> EM GATOS COM E SEM LIVRE ACESSO ÀS RUAS	35
TABELA 5 - INQUÉRITO SOROLÓGICO EM GATOS EM DIFERENTES ESTADOS DO BRASIL	41
TABELA 6 - DADOS DE DIFERENTES AUTORES QUE ESTUDARAM GATOS NÃO DOMICILIADOS	41
TABELA 7 - DADOS DE DIFERENTES AUTORES QUE ESTUDARAM GATOS DOMICILIADOS	42

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, um protozoário de distribuição geográfica cosmopolita. É um microorganismo com pouca especificidade quanto ao hospedeiro, e que desenvolveu rotas potenciais de transmissão entre as diversas espécies as quais parasita. A infecção pode ocorrer em uma variedade de animais de produção e de estimação, determinando prejuízos, tanto econômicos, quanto em relação à saúde de seus hospedeiros. Também é um patógeno oportunista em pacientes com comprometimento imunológico, o que faz da toxoplasmose uma fonte constante de estudo. Através do método de Imunofluorescência Indireta foi possível avaliar a ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em 145 gatos errantes, atualmente domiciliados, que vivem na cidade de Curitiba, estado do Paraná. Destes 145 animais, 73 vivem em um albergue para gatos, têm acesso às ruas, e foram capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Curitiba. Os outros 72 animais vivem em domicílios de clientes de uma clínica veterinária, na capital paranaense. Estes gatos não têm acesso às ruas, foram encaminhados através de uma organização não-governamental até seus atuais proprietários. Pelo método de flutuação Willis-Mollay foram analisadas amostras de fezes dos 72 gatos domiciliados. Cada amostra pôde ser identificada individualmente, o que não foi possível com as fezes dos gatos do albergue, pois vivem em grupos. Dos exames coprológicos realizados, 100% foram negativos para presença de oocistos de *T.gondii*. A sorologia apresentou um índice de soropositividade em 25 gatos (17,2% dos animais), sendo 12 deles do albergue e 13 que foram encaminhados pela ONG. O título de 1:64 foi o que ocorreu com mais frequência entre os animais com teste positivo. A frequência de anticorpos anti-*T.gondii* foi maior em animais mais velhos, faixa etária entre 10 a 12 anos (27,8%). Concluiu-se que os fatores de risco na fase adulta não parecem estar relacionados com o acesso às ruas.

Palavras-chave: Toxoplasmose, anticorpos, oocistos.

ABSTRACT

Toxoplasmosis is a zoonosis caused by the intracellular protozoal parasite *Toxoplasma gondii*. It can infect practically all warm-blooded animals and it has developed several potential routes of transmission among host species. Any livestock or pet may be infected and it represents not only economical loss but also prejudice for the hosts. *T.gondii* has been an important opportunistic pathogen in immunocompromised patients. In the present study we evaluate the occurrence of antibodies anti-*T. gondii* in 145 outdoor cats which live in Curitiba, Brazil. Seventy-three of them live in a shelter for cats and they have free access to the streets. They were caught by the Zoonosis Control Center, in Curitiba. The other seventy-two cats live actually with their owners, and they do not have access to the streets. They were conducted by a non-governmental organization. Cats were divided into two groups: stray cats and young-adopted stray cats. Willis-Mollay method was used for oocyst detection in 72 samples of feces. Serum samples of 145 cats were analysed for antibodies IgG anti-*T.gondii* by immunofluorescent antibody test. All fecal samples were negative for *T. gondii* oocysts. There was no significant difference between groups of cats. A total of twenty-five cats (17.2%) were positive and the most frequent title was 1:64. Frequency of antibodies anti-*T. gondii* was greater in older animals (27.8%). In conclusion, risk factors for toxoplasmosis infection in cats seem to not be related to outdoors access in adulthood.

Keywords: Toxoplasmosis, antibodies, oocysts

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose parasitária causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (NICOLLE; MANCEAUX, 1908). Este parasita intracelular obrigatório pode parasitar qualquer animal de sangue quente (mamíferos e aves), incluindo o homem (DUBEY, 1998). É prevalente em muitas regiões do mundo, sendo considerada uma doença parasitária comum.

Com o desenvolvimento de técnicas laboratoriais como ferramentas para o diagnóstico da toxoplasmose, tem sido possível realizar estudos soropidemiológicos em humanos, assim como em muitas outras espécies animais. Esses testes têm evidenciado a grande distribuição e alta prevalência do parasita em diversas regiões do mundo. Estima-se que, pelo menos um terço da população mundial já tenha sido exposta ao *T.gondii* (LIESENFELD, 2002); a soroprevalência, contudo, é muito variável entre países, dependendo da área geográfica e das condições climáticas de cada região em particular. Esta variação também ocorre entre diferentes grupos étnicos. De acordo com DUBEY (2004) a prevalência entre humanos varia conforme a área geográfica e a idade do indivíduo.

Estima-se que nos Estados Unidos e na Inglaterra este índice é de 16% a 40%, enquanto que na América Central, na América do Sul e na Europa Central estes valores podem variar de 50% a 80%. FERGUSON (2004) registra que esta alta incidência de infecção significa que o protozoário pode ter desenvolvido métodos eficientes para infectar novos hospedeiros, através do desenvolvimento de um ciclo biológico complexo com dois mecanismos de transmissão: por ingestão de oocistos infectantes (esporulados) e pela ingestão de cistos teciduais em hospedeiros intermediários.

Apesar de a infecção por *Toxoplasma gondii* ser comum em humanos, a doença tem sido limitada aos grupos de risco. Pessoas imunocompetentes normalmente não apresentam sintomas quando infectadas pelo parasita. Ocasionalmente pode ser observado linfadenopatia (TENTER *et al.*, 2000).

Nas duas últimas décadas tem aumentado a incidência de infecção oportunista pelo parasita, por causa do surgimento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Quadros graves da toxoplasmose têm se apresentado, especialmente no sistema nervoso central. A manifestação da doença, também como infecção oportunista, pode ocorrer em pacientes que receberam transplante de órgãos e/ou de medula óssea (KAWAZOE, 1995).

Apesar da vasta literatura sobre toxoplasmose, dos avanços clínicos e pesquisas científicas nas áreas de neonatologia, infectologia, ginecologia e obstetrícia, muitos médicos e médicos veterinários ainda fazem observações e recomendações equivocadas, tanto em relação aos animais, quanto à doença em si. A emergência da toxoplasmose a partir da década de 1980, como infecção oportunista em pacientes com AIDS, trouxe à tona o interesse e a necessidade pela pesquisa na área (MARTINS; VIANA, 1998). Esta parasitose é responsável por grande número de óbitos entre estes pacientes (DUBEY, 2004). Quase 80% deles morrem por outras infecções que não pelo vírus da imunodeficiência adquirida, e uma grande fração disto, é devido à toxoplasmose. Por estas e tantas outras razões faz-se necessária a pesquisa constante sobre o assunto, com atualização de dados e busca por medidas de controle da doença (MEDINA *et al.*, 2001).

O gato doméstico (*Felis catus* – Linnaeus, 1758) (MOOJEN, 1976) é um habitante cada vez mais presente nos lares e na vida das pessoas. Por ser o hospedeiro definitivo da toxoplasmose, merece especial atenção quanto ao seu papel na epidemiologia e disseminação da doença.

Através do presente trabalho buscou-se identificar a presença de oocistos do parasita nas fezes dos gatos errantes, atualmente domiciliados, que utilizam caixas sanitárias e não têm acesso às ruas. Além disso, realizar inquérito sorológico dos níveis de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* para comparar gatos de rua adultos com gatos adultos adotados na fase jovem.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HISTÓRICO

A toxoplasmose não é uma doença nova. Muitos autores escrevem sobre os primeiros estudos e descobertas a respeito do *Toxoplasma gondii* e da toxoplasmose. Em 2000, TENTER *et al.* apresentaram alguns dados sobre a evolução das pesquisas e, conseqüentemente, das descobertas sobre esta zoonose. Os indivíduos pertencentes ao gênero *Toxoplasma* foram descritos independentemente, em 1908. Nesta mesma data Splendore, no Brasil, descreveu-o em coelho, e Nicolle & Manceaux, no *gondi* (*Ctenodactylus gondi* / Rothmann, 1776), um roedor do norte da África, quando pesquisavam sobre leishmaniose (FORTES, 1997).

Apesar da identificação do parasita ter ocorrido em 1908, seu modo de transmissão só foi definido em 1970, quando seu ciclo biológico completo foi descoberto (DUBEY, 1998 ; SINGH, 2003). Nicolle e Manceaux criaram o gênero *Toxoplasma* e a espécie *T.gondii* (PESSÔA; MARTINS, 1982). O *T.gondii* tem a seguinte classificação taxonômica: Filo – Protozoa; Subfilo - Apicomplexa; Classe – Sporozoasida; Ordem - Eucoccidiorida; Família: Sarcocystidae; Subfamília - Toxoplasmatinae; Gênero- *Toxoplasma*; Espécie – *Toxoplasma gondii* (FORTES, 1997).

De acordo com TENTER *et al.*, 2000 os primeiros relatos da doença são de 1900, com descrições de parasitas do tipo *Toxoplasma*, em pardais. Em humanos, a primeira descrição também foi de parasitas do tipo *Toxoplasma*, em cistos tissulares. Em 1923 foi registrado o primeiro caso de toxoplasmose (agora a doença já reconhecida e tendo como agente causador *T.gondii*, com gênero e espécie), em uma criança de 11 meses com hidrocefalia e microftalmia congênita. No final desta década o protozoário foi reconhecido como agente causador de encefalomielite em neonatos. Também foi descrita a tríade clássica dos sintomas congênitos da doença em humanos: retinocoroidite, hidrocefalia e encefalite – seguida de calcificação cerebral.

Durante a década de 1940 ocorreu o reconhecimento do parasita como agente causador de doença aguda, em adultos; também o reconhecimento da transmissão vertical em humanos e a introdução do “dye test” com azul de metileno, por Sabin e Feldman, utilizado para detecção

de anticorpos contra *T.gondii* (padrão ouro para a sorologia específica para o *T.gondii* em humanos). Este teste permitiu estudos soroepidemiológicos em humanos e em várias outras espécies animais. A partir daí foi possível evidenciar a grande distribuição e alta prevalência do parasita em várias regiões do mundo.

- Década de 1950: foi levantada a hipótese de que a transmissão horizontal em humanos poderia ocorrer via cistos tissulares em carne de porco mal cozida; também houve evidência da infecção pelo protozoário, por testes sorológicos em vegetarianos.
- Década de 1960: reconhecimento da natureza coccidiana de *T.gondii*: hipótese de que um estágio infeccioso do parasita é passado para o meio ambiente através das fezes de gato. Em 1969, identificação dos oocistos de *T.gondii*.
- Década de 1970: descrição da fase sexual do ciclo biológico no intestino delgado de gatos e de outros felídeos; reconhecimento do papel do gato na epidemiologia da doença.
- Década de 1980: primeiros casos registrados de toxoplasmose no sistema nervoso central, em pacientes com AIDS; reconhecimento de *T.gondii* como patógeno oportunista nestes pacientes.
- Década de 1990: água associada à doença.

2.2 CICLO BIOLÓGICO DE *TOXOPLASMA GONDII*

Toxoplasma gondii é um protozoário coccidiano, com um ciclo biológico complexo, de dois hospedeiros. Os hospedeiros definitivos ou completos do parasita são os membros da família *Felidae*, incluindo o gato doméstico (classificação taxonômica, de acordo com The Encyclopaedia of Mammals, 1993: Reino – Animalia; Filo – Chordata; Classe – Mammalia; Ordem – Carnívora; Família- *Felidae*; Subfamília – *Felinae*; Gênero – *Felis*; Espécie – *Felis catus*). Os animais de sangue quente são seus hospedeiros intermediários ou incompletos. Este parasita pode ser encontrado em muitos tecidos e células, assim como em líquidos orgânicos (leite, saliva, líquido peritonial). Os três principais estágios de desenvolvimento são os oocistos (com esporozoítos), os bradizoítos (Figura 01) e os taquizoítos (Figura 02)

(KAWAZOE, 1995). Esporozoítos são as formas infectantes e estão nos oocistos esporulados (GEORGI, 1982) (Figura 03).

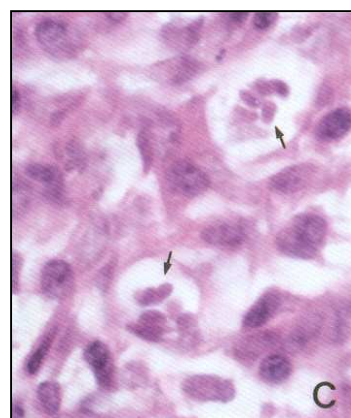
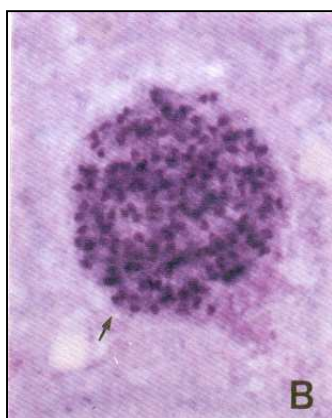


FIGURA 1 - CISTO COM BRADIZOÍTOS (GIEMSA, 1000X) FIGURA 2 - TAQUIZOÍTOS (GIEMSA, 1000X)

Fonte Figura 1: <http://atlas.or.kr/atlas/include/viewing.html/vid=663>

Fonte Figura 2: <http://atlas.or.kr/atlas/include/viewing.html/vid=666>



FIGURA 3 - OOCISTO ESPORULADO (40X).

Fonte: <http://cal.vet.vperm.edu/paraav/images/10-43.jpg>

Vários autores descrevem o ciclo biológico de *T.gondii*, como PESSÔA; MARTINS (1982) e FORTES (1997), mostrando que este ciclo envolve dois tipos de hospedeiros: em um deles ocorre a fase assexuada extra-intestinal, e no outro a fase sexuada, enteroepitelial. Como a fase extra-intestinal de *T.gondii* pode ocorrer nas aves, no homem e em muitas outras espécies de mamíferos, incluindo os felídeos, isto faz com que o toxoplasma seja um dos parasitas de menor especificidade de hospedeiros. É um parasita versátil, a epidemiologia da

doença é complexa e a infecção se dá pela ingestão de oocistos esporulados, ingestão de cistos em carnes mal cozidas ou cruas e pela via transplacentária.

Fase Extra-intestinal: inicia quando um hospedeiro intermediário ingere um oocisto esporulado. Os esporozoítos livres no trato digestivo do hospedeiro intermediário são levados para os linfonodos e diferentes órgãos, onde se multiplicarão por sucessivas endodiogenias. Estas representam um processo de multiplicação vegetativa, com formação de indivíduos filhos a partir de uma célula-mãe. Os organismos resultantes deste processo são os taquizoítos (gr.tachys=rápido). Essa multiplicação ocorre durante a fase aguda da infecção. Os taquizoítos são muito sensíveis aos fatores externos (KAWAZOE, 1995) e são os prováveis responsáveis pela transmissão transplacentária. Quando as células parasitadas estão repletas do agente, elas se rompem e os taquizoítos serão levados pela circulação sanguínea e linfática. Os parasitas vão penetrar nas células dos vários tecidos, especialmente o sistema nervoso central, músculo esquelético e músculo cardíaco; também podem ser encontrados em vísceras como pulmões, fígado e rins. Multiplicar-se-ão mais lentamente do que na fase aguda. Aqui são chamados de bradizoítos (gr.brady = lento).

A fase crônica da infecção é o período em que se instalam os processos imunológicos de defesa do hospedeiro e é caracterizada pela presença de bradizoítos em um vacúolo citoplasmático, onde a membrana se transforma na cápsula do cisto. Esta é resistente, isola o parasita dos mecanismos imunológicos do organismo parasitado, com formação de cistos em muitos locais, como na retina e no cérebro. Podem permanecer viáveis no hospedeiro por muito tempo. Ainda não se conhece sobre esse mecanismo de persistência, porém, é possível que os cistos rompam de tempos em tempos e os bradizoítos se transformem em taquizoítos, re-invadindo as células dos hospedeiros e, mais uma vez, vindo a ser bradizoítos dentro de um novo cisto.

Novos cistos podem ser formados se o hospedeiro tiver depressão em seu estado imunitário, quando os bradizoítos podem sair do cisto e penetrar em outras células. Os cistos teciduais representam o estágio final do ciclo biológico no hospedeiro intermediário e tornam-se imediatamente infecciosos (TENTER *et al.*, 2000).

Fase Enteroepitelial: as pesquisas de FRENKEL (2004) relatam que esta fase inicia quando um felídeo ingere um hospedeiro intermediário que está infectado com cistos contendo

bradizoítos. Estes bradizoítos serão liberados pela ação dos sucos digestivos, e penetrarão nas células epiteliais do intestino delgado ou do cólon do felídeo.

Ocorre uma série de gerações de *Toxoplasma* por reprodução assexuada. No interior destas células os parasitas crescem, transformam-se em esquizontes, reproduzem-se e originam os merozoítos. Estes invadem outras células epiteliais e prossegue o processo de multiplicação assexuada. O processo sexuado inicia-se após alguns dias da infecção. Alguns merozoítos originam macrogametócitos, e outros, microgametócitos. Estes deixam as células da parede intestinal, atingem a luz do intestino e são atraídos pelos macrogametas. A fecundação ocorre na célula da parede intestinal, com a união dos dois núcleos. Resultará na formação de um ovo ou zigoto que, após segregar a parede cística, dá origem ao oocisto. Os oocistos migram para a luz intestinal, pelo rompimento de suas células. Começam a ser eliminados junto com as fezes dos felídeos cinco a dez dias após o repasto infectante e a eliminação permanece por 1 a 2 semanas. O ciclo biológico completo de *T.gondii* (Figura 04) se fecha quando o hospedeiro intermediário ingere um oocisto esporulado. Epidemiologicamente, não se sabe qual a rota mais importante, se a horizontal, ou a vertical, via transplacentária.

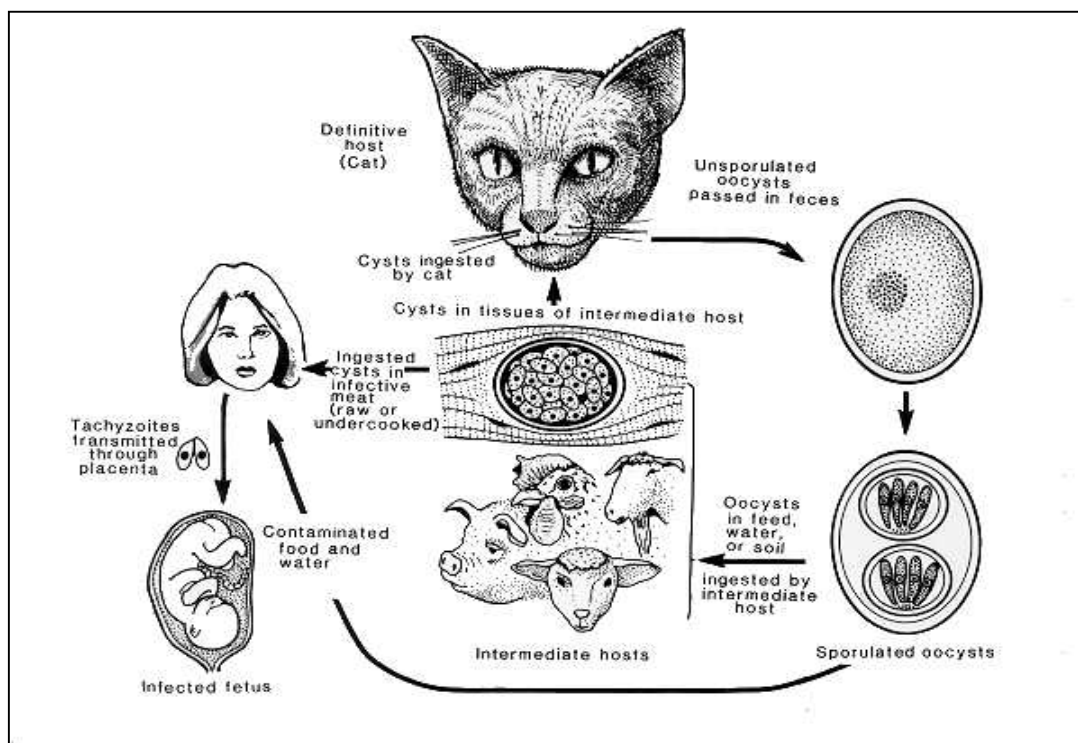


FIGURA 4 - CICLO BIOLÓGICO DO *T.GONDII*. (DUBEY, 2004)

2.3 EPIDEMIOLOGIA

Inquéritos sorológicos têm demonstrado que a infecção por *T.gondii* ocorre em todo o mundo, quase sempre sem manifestação clínica. De acordo com REIF (1980) a prevalência de soropositividade da doença no mundo não é uniforme. Os mais altos índices de infecção geralmente são encontrados em regiões de clima tropical, com umidade e temperaturas altas. Em contrapartida, os níveis mais baixos ocorrem nas regiões de clima seco. Os oocistos sobrevivem no solo e podem infectar o ser humano (BARRAGAN; SIBLEY, 2003); precisam de calor e umidade para se tornar infectantes, pois são eliminados imaturos (ou não esporulados), o que reafirma a observação de índices de soroprevalência maior em regiões quentes.

T.gondii é responsável por uma das zoonoses mais difundidas no planeta. No curso da evolução, este protozoário desenvolveu diferentes rotas potenciais de transmissão, todas com importância epidemiológica. Em todos os países a maioria da população humana e animal já teve contato com o parasita. A doença tem despertado ao longo desses anos interesse particular por se tratar de uma zoonose. Muitos estudos têm sido realizados dando ênfase na toxoplasmose congênita em humanos, resultado da transmissão vertical do parasita durante o período de gestação. Por outro lado, a transmissão horizontal do protozoário entre as muitas espécies de hospedeiros requer mais pesquisa epidemiológica a respeito dos reservatórios do parasita na natureza e do seu impacto epidemiológico em diferentes fontes de contaminação, levando à infecção e/ou doença em humanos. Os estudos sobre fatores de riscos associados à infecção pós-natal também são insuficientes (KAWAZOE, 1995).

MARTINS; VIANA (1998) e SINGH (2003) mostram que são três as vias primárias de transmissão do agente (Figura 05):

Através da infecção transplacentária (forma congênita), que ocorre quando uma mãe não infectada adquire o agente infectante durante a gestação. Primeiramente se dá a parasitemia na mãe, depois a invasão na placenta, até que o protozoário se dissemine pelos tecidos do feto. Isto pode ocorrer quando a mãe apresentar a fase aguda da doença, ou se houver reativação de cistos durante a gravidez. Mulheres com sorologia positiva antes da gravidez têm menos chance de desenvolver a doença e/ou infectar seus fetos.

Outra via de infecção é através da ingestão de cistos teciduais presentes na carne crua ou mal cozida, especialmente de porco e de carneiro (MASUR, 1990 e JAUREGUI *et al.*, 2001).

A terceira via é através da ingestão de oocistos esporulados de fezes de gatos, presentes em jardins ou em caixas de areia, ou que chegaram até ali pela disseminação através do vento ou por vetores mecânicos. Verduras, água, frutas e legumes podem estar contaminados com oocistos.

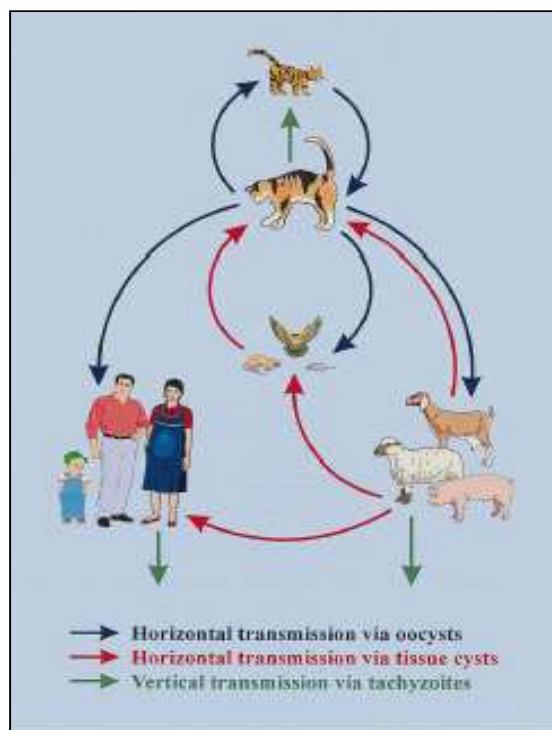


FIGURA 5 - VIAS DE TRANSMISSÃO DE *TOXOPLASMA GONDII* (TENTER *ET AL.*, 2000).

Alguns autores, incluem uma quarta via de infecção, considerada menos freqüente. É a transmissão por ingestão de taquizoítos em leite contaminado. Em um trabalho realizado por POWELL *et al.* (2001) foi demonstrado que é possível encontrar *T.gondii* no leite de gatas lactantes, infectadas experimentalmente. O artigo relata que os taquizoítos não são considerados como uma fonte potencial de transmissão oral do parasita, porque morrem rapidamente quando estão fora do hospedeiro e são sensíveis a enzimas proteolíticas. Porém, sobrevivem até duas horas em soluções contendo pepsina. Além disso, a administração oral de grandes quantidades de taquizoítos infecta gatos adultos.

SINGH (2003) afirma que *T.gondii* também pode ser transmitido através do transplante de órgãos e da transfusão de sangue, e MASUR (1990) demonstra que a frequência de infecção por *T.gondii* depende de fatores econômicos, sociais, ambientais e higiênicos. Também depende da ocupação profissional e de hábitos e costumes de uma região. McCABE; REMINGTON (1991) consideram que empregados de matadouros têm risco maior de infecção; por outro lado MARTINS; VIANA (1998) mostram que muitos estudos tentaram identificar uma relação entre a exposição do profissional ao *T.gondii* e soroprevalência maior, sem sucesso, ou seja: não havia diferença entre o grupo selecionado e a população em geral. Em um estudo desenvolvido por DIAS *et al.* (2005) verificou-se a presença de cistos de *T.gondii* em lingüiça tipo frescal, de carne suína, e de anticorpos anti-*T.gondii* no soro de trabalhadores de indústrias, em Londrina, Paraná. Das 149 amostras de lingüiças que foram coletadas, obteve-se 8,72% de positividade através de bioensaio em camundongos. Das 47 amostras de sangue de trabalhadores, obteve-se soroprevalência em 58,5% delas. Concluiu-se que não havia diferença entre trabalhadores envolvidos em serviços burocráticos e nos manipuladores de lingüiças. Porém, os autores inferiram que lingüiças tipo frescal possuem relevância na cadeia epidemiológica da doença, naquele estado brasileiro.

2.4 FATORES DE RISCO

JONES *et al.* (2001) mostram que estudos epidemiológicos têm apontado alguns fatores de risco para a infecção por *T.gondii* : ingestão de carne crua ou mal cozida, água contaminada, frutas e verduras mal lavadas, jardinagem, contato direto com areia ou terra que gatos têm acesso, manuseio inadequado de utensílios de cozinha. Na França, as carnes de carneiro, porco e cavalo representam importantes fontes de infecção para humanos, por causa do hábito de consumo de carne mal cozida (ECKERT, 1996). Possuir um gato não representa um fator de risco consistente para infecção por *T.gondii*, mas sim a exposição às suas fezes. Os gatos eliminam oocistos por uma a duas semanas durante sua vida e após a primo-infecção raramente eliminam oocistos novamente (OLIVEIRA *et al.*,2001). De acordo com SILVA *et al.* (2001a) é evidente que a infecção por *T.gondii* não poderia ser mantida no ambiente se não

existissem gatos. Eles são importantes na disseminação da toxoplasmose em animais e em humanos.

2.5 PATOGÊNESE

De acordo com DAVIDSON (2000) a patogênese da toxoplasmose é determinada pelo efeito citopático de *T.gondii*, ou seja, necrose celular, pelo seu crescimento intracelular, já que o agente não produz toxinas que possam lesionar células. Com a infecção primária, a disseminação e replicação dos taquizoítos acontecem em órgãos-alvo, levando à morte celular e necrose de tecidos. Normalmente o hospedeiro não apresenta sinais clínicos. A resposta imunológica geralmente se desenvolve em uma a oito semanas após a exposição primária e ocorre a formação de cistos contendo bradizoítos, os quais permanecem inativos e não causam problemas ao hospedeiro. Sua reativação e replicação podem causar sinais clínicos, necrose e inflamação tecidual.

O curso da infecção por *T.gondii* é influenciado pela virulência do organismo, tamanho da porção inoculada, carga genética e condição imunológica do indivíduo. KAWAZOE (1995) explica que a resposta imunológica de um indivíduo frente à toxoplasmose é complexa, e envolve mecanismos de defesa humoral e celular. Após a infecção *T.gondii* inicia a sua multiplicação e disseminação pelo organismo, através das vias sanguínea e linfática.

Os anticorpos controlam o nível dos parasitas na corrente sanguínea e em fluidos de tecidos. Os anticorpos, juntamente com o complemento destroem o agente encontrado livre nos fluidos corpóreos. Reduzem sua disseminação entre as células, mas terão pouca influência nas formas intracelulares do parasita. Microorganismos intracelulares são destruídos por resposta imunológica mediada por células.

Os linfócitos T sensibilizados secretam interferon gama, que ativará macrófagos que, por sua vez, eliminarão o agente intracelular pela fusão de lisossomo-fagossomo. Algumas células T podem liberar citocinas que interferem diretamente com a replicação de *Toxoplasma gondii*. O parasita pode lutar contra a ação dos macrófagos, que podem inibir sua ação, ou matá-lo (Figura 06).

As células T citotóxicas podem destruir taquizoítos do agente e as células que foram infectadas. Assim as respostas imunológicas mediadas por anticorpos e por células agem em conjunto para determinar a eliminação do estágio de taquizoíto do parasita (TIZARD, 1998).

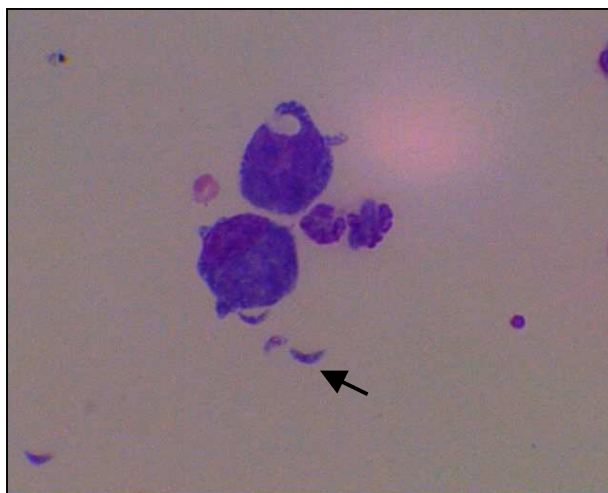


FIGURA 6 - TAQUIZOÍTOS PRÓXIMOS A MONÓCITOS (HE - 1000X)

Fonte: www.workforce.cup.edu/buckelew/images

T.gondii poderá aproveitar a presença de células apresentadoras de antígeno, pela inibição das moléculas de superfície e interferir nas etapas da apoptose (MONTROYA; LIESENFELD, 2004). A apoptose, muitas vezes, é benéfica para o organismo; serve como mecanismo de defesa. A morte celular programada, como parte de um processo normal, facilita a fagocitose (PAULA *et al.*, 2002).

Nem sempre é possível saber a razão pela qual alguns animais desenvolvem a doença clínica e outros não, contudo, o estado imunológico do indivíduo pode estar associado com a infecção primária ou com a infecção recorrente. Casos fatais de toxoplasmose em cães, por exemplo, podem estar relacionados à co-infecção com doenças virais, como a cinomose. Como a doença leva à depressão do sistema imunológico, haverá comprometimento à resistência ao *T.gondii*, e o animal irá a óbito pela co-infecção (PAIXÃO; SANTOS, 2004).



FIGURA 7 - ABSCESSO CEREBRAL CAUSADO POR *T. GONDII*.

Fonte: www.md.huji.ac.il/mirror/webpath/AIDS/html

Em humanos, a infecção pelo HIV predispõe o indivíduo à re-infecção, ou seja, reativação de uma infecção adquirida em fases anteriores de sua vida. Nestes pacientes o *T.gondii* causa encefalite, com formação de abscessos no sistema nervoso central (Figura 07). A infecção primária pode causar alterações neurológicas, porém, a maior parte dos casos clínicos, é resultado da reativação de uma infecção adquirida anteriormente (BAHR; MORAIS, 2001).

Casos de toxoplasmose fatal podem ocorrer em neonatos humanos, assim como em cães e gatos. Em um estudo desenvolvido por HENRIKSEN *et al.* (1994) na Dinamarca, cento e cinquenta e cinco gatos foram necropsiados em um período de dois anos. Toxoplasmose fatal e a presença de *T.gondii* foram diagnosticadas em 3,2% desses animais. As lesões encontradas foram focos necróticos no fígado e baço, pneumonia intersticial com necrose e acúmulo de células mononucleares, inflamação cerebral não supurativa e edema. Os sinais clínicos variaram entre conjuntivite, rinite e dispnéia nos animais jovens. Nos animais mais velhos observou-se doença neurológica progressiva com ataxia, paresia e convulsões. Os resultados obtidos revelaram que a toxoplasmose fatal naturalmente adquirida em gatos é mais comum do que se imaginava (DAVIDSON, 2000).

BARRAGAN; SIBLEY (2003) explicam que as barreiras biológicas regulam a permeabilidade de fluidos para manutenção do equilíbrio homeostático, e representam um escudo contra as infecções microbianas. Um pequeno número de microorganismos patogênicos, como bactérias, fungos, vírus e parasitas, é capaz de atravessar barreiras biológicas não permeáveis, como a placenta ou a parede intestinal. Estes seres capazes de

ultrapassar a primeira linha de defesa do organismo, estão entre as causas mais graves de doenças.

Apesar dos adiantados estudos sobre a base genética quanto à virulência do parasita, pouco se conhece sobre os fatores relacionados à imunidade do hospedeiro. Sabe-se que a motilidade ativa é utilizada para invasão de células e também para sua disseminação em tecidos (Figura 08). A habilidade de atravessar, rapidamente, barreiras epiteliais e chegar à corrente sanguínea em poucas horas pós-infecção, pode ser um fator determinante da disseminação “*in vivo*”, especialmente em lugares com imunidade privilegiada, como o sistema nervoso central. Para que as barreiras celulares sejam atravessadas, é preciso que haja a motilidade em deslizamento, que permite o acesso do parasita em diferentes tecidos. Atravessar barreiras biológicas, levando à disseminação para dentro do hospedeiro, é essencial para que se instale a infecção. Quando for possível conhecer o mecanismo de migração rápida do parasita para dentro da célula do hospedeiro, entender-se-á seus fatores de virulência e a importância da disseminação da infecção antes do início de uma resposta imunológica efetiva.

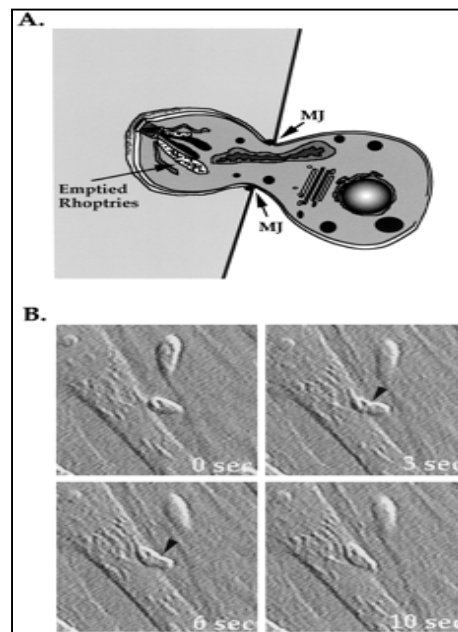


FIGURA 8 - MOTILIDADE DO *T. GONDII* E CAPACIDADE DE INVASÃO DA CÉLULA

Fonte: <http://iai.asm.org/cgi/content/full>

2.5.1 Toxoplasmose e gestação

O primeiro caso de toxoplasmose congênita foi descrito em 1923, por Janku (FRENKEL, 2004); só mais tarde foi reconhecida como tal. Tratava-se de uma criança de 11 meses de idade, que nascera com hidrocefalia e microftalmia. Os estudos prosseguiram e levaram ao reconhecimento de *T.gondii* como agente etiológico de encefalomielite em neonatos.

No início da década de 1940 concluiu-se que a doença tinha caráter congênito, resultado da transmissão vertical do protozoário, proveniente da mãe para o feto. Os sintomas da doença em neonatos foram descritos nesta época, porém somente em 1960 a infecção pré-natal por *T.gondii* foi reconhecida como uma das importantes causas de seqüelas tardias (TENTER *et al.*, 2000).

Se a infecção for adquirida durante a gestação, pode ocorrer a transmissão vertical de *T.gondii*. É a toxoplasmose congênita ou pré-natal e sua importância está diretamente ligada à infecção em seres humanos. A imunidade adquirida antes da gestação reflete-se na soropositividade materna de IgG e representa proteção para o feto.

As taxas de prevalência em mulheres grávidas, baseadas em exames sorológicos, variam de 7,0% a 51,3% e as taxas em mulheres com gestação anormal e aborto, variam de 17,5% a 52,3% (SALANT; SPIRA, 2004). A infecção adquirida durante a gestação pode ser transmitida para o feto, em 30% dos casos (AJZENBERG *et al.*, 2002).

Segundo McCABE; REMINGTON (1991), as manifestações clínicas da toxoplasmose congênita são variadas: desde ausência de seqüelas, até seu aparecimento em diferentes idades do indivíduo. A maior parte dos sinais clínicos é inespecífica, e assemelha-se a outras doenças, como a rubéola. Dentre estes sinais, podem ser citados: coriorretinite, estrabismo, cegueira, epilepsia, retardo mental, anemia, icterícia, calcificação intracerebral, hidrocefalia, diarreia, entre outros. Se os sinais clínicos forem evidentes nos neonatos, as seqüelas serão severas. Os indivíduos prematuros podem apresentar lesões no sistema nervoso central e/ou enfermidade ocular nos três primeiros meses de vida.

Quando a mulher está fazendo o exame pré-natal, os testes sorológicos são indicados a fim de detectar uma possível infecção por *T.gondii* na mãe – o que levaria em transmissão para o feto (OLBRICH NETO; MEIRA, 2004).

A toxoplasmose congênita pode ocorrer quando uma gestante com sorologia negativa é infectada pelo *T.gondii* durante o período de gestação. O risco de uma gestante desenvolver uma infecção primária, está relacionado com a incidência de infecção na população envolvida (REY, 1999). No caso de contaminação da mãe, o ideal é reduzir ou prevenir a doença no feto, através de diagnóstico precoce e tratamento durante a gestação. Os neonatos infectados devem receber tratamento e acompanhamento por, pelo menos, dois anos (TENTER *et al.*, 2000).

Se ocorrer nos primeiros meses de gestação, o feto pode morrer ou ocorrer um aborto espontâneo. Aborto por toxoplasmose é responsável por um índice dez vezes maior do que aborto em gestantes saudáveis. Se a infecção ocorrer mais tarde, a criança pode nascer com todos os problemas decorrentes da doença. No segundo trimestre da gestação, pode ocorrer o aborto ou também o nascimento prematuro da criança, que pode nascer normal ou com anomalias graves, como encefalite com convulsões, pleocitose do líquido céfalo-raquidiano, calcificações cerebrais e destruição da retina. E, se esta infecção ocorrer no último terço da gestação, a criança pode nascer com aparência normal, porém a doença vai se desenvolvendo, e os sinais clínicos vão aparecer semanas após o nascimento. No último trimestre da gestação, a toxoplasmose pode levar a um comprometimento ganglionar generalizado, miocardite, pneumonia, hepatomegalia, esplenomegalia, anemia, trombocitopenia, falta de ganho de peso e lesões oculares. Estas alterações são consideradas patognomônicas da doença.

A coróide e a retina são parasitadas por taquizoítos, promovendo inflamação e degeneração destas porções oculares, conhecido em oftalmologia por “foco em roseta”. Poderá manifestar-se em fase tardia ao nascimento, uma vez que mecanismos imunitários levam à formação de cistos do parasita. Posteriormente, poderá ocorrer uma reagudização das formas latentes, determinando no indivíduo a toxoplasmose ocular de origem intra-uterina. Em 1997, SZÉNÁSI *et al.* afirmaram que bebês aparentemente normais ao nascer podem desenvolver lesões oculares na forma de cicatrizes na retina. Estas lesões irão desenvolver-se lentamente nos primeiros três a quatro anos de vida, podendo ou não se manifestar clinicamente.

A toxoplasmose congênita é considerada uma das formas mais graves da doença. Seus sintomas são variados, porém, enquadram-se na “Tétrade ou Síndrome de Sabin”: coriorretinite em 90% dos casos; calcificações cerebrais em 69% dos casos, perturbações neurológicas com retardamento psicomotor em 60% dos casos e alterações do volume craniano, com micro ou macrocefalia, em 50% dos casos (KAWAZOE, 1995).

A presença de anticorpos anti-*T.gondii* no recém-nascido não significa presença da infecção, uma vez que a IgG materna atravessa a placenta, e os anticorpos maternos podem permanecer na criança por um ano. O diagnóstico deve ser baseado na busca de IgM ou IgA, que é produzida como parte da fase da resposta aguda (ASHBURN *et al.*, 2005) e que representa a síntese de anticorpos pela criança (FRENKEL, 2004).

A prevenção da toxoplasmose congênita é necessária, e deve-se tentar reduzir o risco de contaminação das mulheres em idade reprodutiva, através de educação em saúde, principalmente daquelas com sorologia negativa.

Não é fácil reduzir o risco de contaminação de mulheres gestantes, pois isto requer mudanças no estilo de vida e hábitos, a fim de evitar meios de transmissão do protozoário. Informações sobre medidas preventivas devem ser dadas a todas as mulheres para prevenir infecções agudas durante o início da gestação, que é considerado o período mais perigoso para o feto (SZÉNÁSI *et al.*, 1997). Realizar perfil sorológico de mulheres grávidas é uma estratégia efetiva para prevenir a infecção pré-natal.

Medidas preventivas podem reduzir o risco de infecção, mas nem sempre podem evitá-la. Os setores de saúde adotam medidas de prevenção da infecção congênita, porém os dados sobre a eficiência destas medidas nem sempre são conclusivos. Um painel sorológico bem esquematizado e obrigatório para todas as mulheres grávidas só existe na França e na Áustria, e um acompanhamento neonatal já existe em alguns países como a Dinamarca e alguns estados norte-americanos. Através deste acompanhamento, mais de 80% de recém-nascidos infectados são identificados (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

SINGH (2003) e WALLON *et al.* (1999) afirmam que, muito do que se conhece sobre a toxoplasmose congênita é proveniente de informações da França e da Áustria, onde é obrigatório o exame para toxoplasmose em mulheres grávidas. De acordo com SPALDING *et al.* (2003), este procedimento reduziu a incidência da doença congênita de 40% para 7%. Os exames são realizados a cada três meses e, quando há soroconversão, há acompanhamento clínico: os fetos são examinados através da ultrassonografia, amniocentese, e através da pesquisa sobre a presença do *T.gondii* no líquido amniótico e no sangue do feto. Quando ocorre um caso de infecção durante a gestação, as mulheres são tratadas com espiramicina para prevenir a transmissão para o feto e com sulfadiazina e pirimetamina para prevenir algum

tipo de dano fetal. A infecção fetal pode ser prevenida ou minimizada quando a mãe recebe tratamento logo após o diagnóstico da doença.

2.5.2 Toxoplasmose pós-natal

De acordo com FRENKEL (2004) o número de pessoas com sorologia positiva para *T.gondii* é muito grande. A doença adquirida depois do nascimento pode ter evolução variável. Dentre as várias manifestações da doença, podemos classificá-las em:

- Toxoplasmose ganglionar ou febril aguda: esta é a forma mais freqüente da doença. Pode ocorrer em crianças e em adultos. Geralmente é de natureza crônica e benigna, mas pode levar a complicações em vários órgãos. A infecção aguda é generalizada, com aparecimento de febre alta e comprometimento ganglionar. Suspeita-se de uma fase entérica, já que, normalmente, a infecção é contraída pela via oral, ou seja, pela ingestão de cistos ou de oocistos esporulados. Ocorre dano tissular porque os taquizoítos destroem as células hospedeiras. À medida que se desenvolve a resposta imunológica, estas formas (taquizoítos) tornam-se menos ativas e formam cistos fechados em uma membrana. O hospedeiro pode não apresentar sintomatologia; se tiver, os achados clínicos e laboratoriais são: pneumonia difusa, tosse seca não produtiva, miocardite e miosite durante o período febril inicial, hepatite discreta e de curta duração, exantema cutâneo maculopapular, encefalite que pode acompanhar as demais manifestações, ou ser a manifestação primária desta forma de toxoplasmose.
- Linfadenite toxoplásmica: na linfadenite generalizada os gânglios linfáticos estão aumentados e com sensibilidade dolorosa, pois os taquizoítos em reprodução causam necrose. Geralmente há envolvimento dos nódulos cervicais posteriores.
- Toxoplasmose ocular: estudos sorológicos confirmados por histologia e isolamento do *T.gondii* em alguns casos, demonstram que a toxoplasmose é responsável pela retinocoroidite, lesão mais freqüente associada à doença ocular, em 30% a 60% dos pacientes. O primeiro local de infecção por *T.gondii* é a retina, e as lesões causadas pela doença levam a cicatrizes e/ou perda da função visual, especialmente quando a região da mácula está envolvida. Uma vez estabelecida, a cicatriz permanece por toda

a vida (GÓMEZ-MARÍN, *et al.*, 2000). Este tipo de toxoplasmose é consequência de uma infecção localizada aguda ou crônica. Por esta razão o nível de taxa de anticorpos não se eleva, o que dificulta o diagnóstico pela sorologia. As lesões oculares são comuns em humanos e em animais que adquiriram a infecção pelo protozoário, pois os olhos são órgãos-alvo desta enfermidade. Em humanos a infecção por *T.gondii* é considerada a causa mais comum de inflamação do segmento posterior do olho, que compreende a retina, a coróide e o nervo óptico. Na retinite, a inflamação inicia-se rapidamente, e permanece por um a dois meses; provavelmente por ruptura de um cisto e sensibilidade do hospedeiro. Seu sistema imunológico é capaz de inibir a proliferação dos organismos liberados. As lesões são branco-amareladas, envoltas por um halo de hiperemia, compatíveis com necrose retiniana. É necessário realizar um diagnóstico diferencial com citomegalovírus, que leva à retinite citomegálica. A retinite crônica leva a um quadro de perda progressiva da visão. Se o paciente tiver glaucoma e, conseqüentemente, dor, pode agravar a situação. Acredita-se que a retinite crônica deva-se a uma imunidade deficiente na retina. Na região sul de nosso país, observa-se alta prevalência de toxoplasmose ocular em indivíduos que têm o hábito de ingerir carne de porco mal cozida. Muitos são descendentes de alemães e italianos. No Rio Grande do Sul, por exemplo, a região noroeste apresenta a maior ocorrência mundial de toxoplasmose ocular, com prevalência de 17,7% na população rural de Erechin (GARCIA *et al.*, 1999; SPALDING *et al.*, 2003).

- Toxoplasmose generalizada: forma grave da doença, que leva o paciente a óbito, mesmo os indivíduos com resposta imunológica normal. É uma forma rara de toxoplasmose.
- Toxoplasmose em indivíduo com comprometimento imunológico: a toxoplasmose pode ocorrer de forma disseminada em indivíduos imunologicamente deficientes. Ocorre mais freqüentemente em pacientes com AIDS e em menor escala nos indivíduos transplantados (MASUR, 1990). Segundo MONTROYA; LIESENFELD (2004), diferentemente dos indivíduos imunocompetentes onde geralmente o curso da doença é favorável, em indivíduos imunocomprometidos a doença deve ser tratada por toda a vida. A reativação de uma infecção latente leva ao aparecimento dos sintomas da doença. O sistema nervoso central é o local mais afetado pela infecção. Encefalite

toxoplásmica clínica varia desde um processo sub agudo até um estado agudo de alterações nervosas. As manifestações clínicas incluem alterações mentais e deficiências motoras. Os sinais apresentados variam desde cefaléia, hipertermia, hemiparesia leve até perda da coordenação motora, convulsões, letargia, estupor, coma e morte. O diagnóstico diferencial de encefalite toxoplásmica inclui: linfoma do sistema nervoso central, citomegalovírus, leucoencefalopatia multifocal progressiva e abscessos cerebrais bacterianos. Indivíduos com comprometimento imunológico podem apresentar também pneumonia, retinocoroidite, alterações em vários órgãos com falência respiratória aguda e alterações hemodinâmicas semelhantes ao choque séptico. Geralmente a evolução clínica da toxoplasmose em pacientes com competência imunológica é benigna, e não inclui manifestações neurológicas. Ainda que raro, este processo pode acontecer, como o caso relatado por SILVA *et al.*, (2001b), de uma paciente que apresentou abscessos cerebrais por *T.gondii*, sem evidência de algum fator causador de imunossupressão.

2.6 TOXOPLASMOSE E ALIMENTOS

O ser humano pode adquirir a infecção por *Toxoplasma gondii* pela ingestão de alimentos contaminados com oocistos esporulados ou cistos teciduais em carnes (DUBEY, 2000).

TENTER *et al.* (2000) afirmam que os cistos contidos na carne dos animais de produção representam uma fonte de infecção importante em humanos. Seu papel na rota horizontal de transmissão do agente da toxoplasmose é de grande relevância em termos epidemiológicos. Os cistos teciduais podem se desenvolver em seis dias após a infecção dos hospedeiros intermediários, seja por oocistos ou por outros cistos teciduais. Dependendo da espécie parasitada, o número e a localização dos cistos são variáveis. Em países da Europa, e nos Estados Unidos a carne de porco é considerada a maior responsável pela contaminação humana. Cortes comerciais desta carne comprovam este fato, assim como estimativas sobre prevalência do protozoário em suínos.

Estudos recentes têm demonstrado que, nas últimas décadas, houve diminuição da prevalência de infecção por *T.gondii* em suínos (JAREGUI *et al.*, 2001), chegando a níveis

menores do que 1% em propriedades de animais de engorda em sistema de criação em confinamento. Isso ocorreu graças a mudanças no manejo à adoção de medidas adequadas de higiene e prevenção. Por outro lado, a produção de animais em manejo livre (não confinados) pode estar associada à infecção por *T.gondii*, pela contaminação do ambiente com oocistos. Em alguns países, a soroprevalência de carneiros pode chegar a 92%, e de cabritos a 75%, e estes pequenos ruminantes são importantes produtores de carne e leite.

Os cistos teciduais são relativamente resistentes a variações de temperatura e permanecem infectantes sob condições de refrigeração (1°C a 4°C), por até três semanas. Eles também sobrevivem a temperaturas entre -1°C e -8°C por mais de uma semana. É provável que algumas cepas de *T.gondii* sejam resistentes ao congelamento, porém alguns cistos morrem em temperatura de -12°C. A uma temperatura de cozimento de 67°C os cistos também morrem, mas não é só a temperatura que influencia neste resultado. O tempo e a maneira de cozimento também.

Experimentalmente os cistos permanecem viáveis a 60°C por 4 minutos e a 50°C por 10 minutos. Carnes cozidas em forno microondas podem deixar os cistos ainda viáveis por promover um cozimento desigual do alimento. Assim como os fatores descritos acima, procedimentos comerciais no preparo de carnes, como a maturação com sal, ou defumados também requerem quantidades certas de ingredientes e temperatura de armazenamento. Testes laboratoriais provaram que os cistos foram mortos por uma solução de NaCl a 6% em temperaturas de 4°C a 20°C. Em concentrações mais baixas, o sal não mata, necessariamente, os cistos. Não é somente pela ingestão de carne contaminada que se dá a infecção por *T.gondii*, mas também pela manipulação da carne crua, dos utensílios de cozinha para o seu preparo (facas, tábuas). Por isso, as mãos devem ser bem lavadas com água e sabão após o manuseio de carne crua, de acordo com os autores ECKERT (1996) ; MARTINS; VIANA (1998).

McALLISTER (2005) ressalta a importância em adotar medidas para evitar a presença de gatos em locais de armazenamento de alimentos e de água para os animais de produção, observar o tipo de manejo e produção de rebanhos, condições higiênicas em abatedouros, processamento e tecnologia de alimentos, incluindo laticínios e vegetais.

Em 8 de Fevereiro de 2006 a Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde – SVS/MS foi notificada pela Secretaria Estadual de Saúde Goiás – SES/GO, a respeito

da ocorrência de um surto de toxoplasmose em Goiânia – GO. Até aquele momento haviam sido registrados 11 casos da doença, confirmados por exames laboratoriais. Suspeita-se que a contaminação pelo *T. gondii* tenha ocorrido pela ingestão de carne crua (quibe cru), servida em uma festa realizada em 17/12/2005.

Este alimento suspeito fora comprado em uma casa de carnes em Goiânia, e o mesmo estabelecimento já havia vendido carne para uma festa em Anápolis- GO, onde também houve um surto de toxoplasmose.

Iniciou-se uma investigação epidemiológica pela Vigilância Epidemiológica Municipal, em parceria com a Vigilância Epidemiológica Estadual, e com a Secretaria de vigilância em Saúde –SVS (COVEH). Outros órgãos estão envolvidos como a Vigilância Sanitária Municipal, Vigilância Sanitária Estadual, Rede Básica de Assistência em Saúde Municipal, LACEN – GO, Agrodefesa – GO e Ministério da Agricultura.

Nos últimos meses o estado de Goiás apresentou setenta casos de toxoplasmose confirmados em humanos (MINISTÉRIO DA SAÚDE-SVS/MS, 2006 ; TERRA – NOTÍCIAS-BRASIL 2006).

2.7 TOXOPLASMOSE E ÁGUA

A água que é usada para consumo humano pode estar contaminada com oocistos de *T.gondii*, servindo como meio de veiculação do protozoário (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Estes oocistos podem ser encontrados em água que recebe esgoto e dejetos.

Segundo OLIVEIRA *et al.* (2001) há dois casos relatados: um em 1995, em British Columbia, Canadá e outro em 2001 no estado do Paraná, em nosso país. Em ambos a água foi implicada como fonte de transmissão do agente causador de toxoplasmose aguda na população. No segundo foi relatado um surto da doença, que afetou 290 pessoas. Destas, 132 foram confirmadas por exames laboratoriais (Tabela 1).

A contaminação ambiental com oocistos do parasita inclui, também, os oceanos. Soroprevalências em altos níveis foram demonstradas em uma variedade de mamíferos marinhos, inclusive várias espécies de focas, golfinhos, dentre outros. Ostras bivalves, como a *Crassostrea virginica* apanham oocistos enquanto filtram o alimento (McALLISTER, 2005).

Assim, moluscos podem funcionar como fonte potencial de infecção por *T.gondii*, pois tanto humanos quanto mamíferos marinhos alimentam-se deles (DUMÈTRE; DARDÉ, 2003).

Muitos estudos levantam a hipótese de que a transmissão de oocistos pela água pode ter mais importância do que se possa imaginar. A redução da transmissão, via oocistos que são eliminados por gatos, pode ser conseguida através de medidas preventivas, porém, medidas de controle da qualidade da água para consumo humano, são incertas (TENTER *et al.*, 2000). Há, também, vários relatos sobre infecção por *T.gondii* em mamíferos marinhos (lontras, baleias, golfinhos). Não se sabe, ao certo, como esses animais se infectam. Provavelmente como qualquer outro hospedeiro intermediário: pela ingestão de oocistos na água, ou pela ingestão de tecidos contaminados de outros animais. Oocistos podem ser levados ao mar pela contaminação das áreas vizinhas e podem esporular e sobreviver na água do mar, por meses (DUBEY, 2004).

TABELA 1 - ENVOLVIMENTO DE OOCISTOS EM MANIFESTAÇÃO DE TOXOPLASMOSE EM HUMANOS. FONTE SUSPEITA: ÁGUA

País	Ano	Número de casos	Isolamento/oocistos
Panamá	1979	35	Não
Canadá	1995	100	Não
Brasil	2002	290	Não

Adaptado de Dumètre; Dardé, 2003.

2.8 TOXOPLASMOSE E VACINA

As pesquisas para desenvolvimento de uma vacina contra infecção pelo *T.gondii* devem ter como objetivo auxiliar no controle da disseminação do protozoário e redução da severidade da doença. Conseqüentemente, haveria redução do comprometimento fetal, do número de cistos tissulares nos animais e preveniria a formação de oocistos em gatos (DUBEY, 1996 ; McALLISTER, 2005).

PARMLEY *et al.*, (2002) consideram uma vacina para animais, contra *T.gondii*, uma descoberta de grande valor, não só para melhorar a produtividade para o agro-negócio, mas também para reduzir o risco de transmissão para humanos. De acordo com estes autores, muitas vacinas vivas atenuadas com cepas de *T.gondii* têm sido desenvolvidas para utilização

em gatos, ovelhas e porcos, porém uma vacina recombinante seria mais segura e mais barata em termos de produção e comercialização por médicos veterinários. Os melhores antígenos para vacinas em protozoários são os antígenos de superfície e secretores, já que parecem ser os maiores alvos da resposta imune em infecção natural.

De acordo com McALLISTER (2005) atualmente existe uma vacina disponível em alguns países da Europa e na Nova Zelândia. É a vacina TOXOVAX[®]. A intenção do uso desta vacina é prevenir aborto por toxoplasmose em ovelhas. Por ser uma vacina viva atenuada, não há chance de formação de cistos, não oferecendo risco à carne que será usada para consumo. A vacina previne o aborto em ovelhas, porém é importante saber se ela é capaz de reduzir a infecção na carne, considerando que o rebanho ovino é criado em pastejo livre, exposto à contaminação por oocistos, difícil de prevenir. Se a vacina puder ser usada com este propósito, então todo filhote (macho e fêmea) deverá ser vacinado ao nascimento.

Em relação aos felinos, outro tipo de vacina seria desenvolvido, a fim de prevenir ou reduzir a liberação de oocistos. Uma vacina oral, eficiente, foi desenvolvida para gatos. Gatos de fazenda e seus arredores foram imunizados, e seu uso foi associado a uma redução secundária de infecção em suínos. A desvantagem desta vacina é que os bradizoítos vivos atenuados só crescem em camundongos, dificultando seu processo e purificação e encarecendo sua produção em grande quantidade; o ideal seria o cultivo celular.

Quando for possível a fabricação de uma vacina que previna a eliminação de oocistos pelos gatos, sua administração poderia ser de caráter obrigatório, como é realizado com a vacina contra raiva. Uma outra opção de pesquisa em vacinas contra a toxoplasmose seria para uso em humanos. Não existe este tipo de vacina comercial disponível no mercado e não se sabe qual seria a aceitação por parte da população. Talvez fosse necessário utilizar o organismo atenuado (como no caso das ovelhas), porém, tomando cuidado em garantir que tal vacina não infectasse o sistema nervoso central, ou causasse algum tipo de problema neurológico.

SINGH (2003) afirma que pacientes imunocompetentes que entram em contato com o *T.gondii* desenvolvem imunidade para toda a vida. Estes antígenos poderão vir a ser usados no desenvolvimento de uma vacina. Este mesmo autor realizou uma pesquisa, onde diferentes antígenos de *Toxoplasma gondii* foram englobados dentro de lipossomas e avaliados quanto à sua habilidade de proteger camundongos contra a infecção pelo parasita: antígeno solúvel de

taquizoíto, cisto tecidual, taquizoíto + cisto tecidual ou antígeno purificado de taquizoítos. Um grupo foi imunizado e um grupo controle recebeu solução salina. A inoculação foi por via subcutânea, na sexta, quarta e segunda semana, antes da exposição aos oitenta cistos de *T.gondii*, cepa P, que receberam por via oral. Todos os animais imunizados apresentaram resposta humoral, dosada por ELISA. Não houve correlação entre título de anticorpo e proteção contra o desafio. Todos sobreviveram, diferentemente daqueles que receberam solução salina e morreram.

Uma vacina humana contra a infecção por *T.gondii* é muito desejável, porém, ainda longe da realidade. Até hoje somente a cepa viva atenuada S48 foi autorizada para uso em rebanho ovino, na Europa e na Nova Zelândia. Algumas pesquisas têm sido realizadas com o intuito de induzir à proteção por Linfócito T (Th1) e por respostas humorais, com a esperança de mimetizar uma imunidade por toda a vida, que só é conseguida quando existe infecção natural (MONTROYA; LIESENFELD, 2004).

2.9 O PAPEL DO GATO

O gato é o principal responsável pela perpetuação da doença no meio ambiente, por ser o representante doméstico dos hospedeiros definitivos (família *Felidae*), que produz e elimina oocistos. Têm, portanto, importância fundamental na epidemiologia da toxoplasmose.

Estima-se que menos de 1% da população felina excreta oocistos em um determinado momento da vida e eles são eliminados por somente 7 a 14 dias; porém, quando eliminados, ocorre em grande número: aproximadamente 100.000 oocistos/g de fezes.

De acordo com BROWN *et al.* (2003), os gatos eliminam oocistos por dias após a ingestão de cisto tecidual, e por semanas após a ingestão de oocisto esporulado. Esta liberação acontece no final do ciclo enteroepitelial: após a ingestão de cistos em tecidos dos hospedeiros intermediários. Antes de se tornarem infectantes os oocistos devem esporular, entre um a cinco dias após a excreção, e podem permanecer no ambiente por meses ou até anos. Como os oocistos passam não esporulados para o ambiente, portanto, não infectantes, o contato com fezes frescas (fezes de um dia) não representa risco de adquirir a doença.

O fato de possuir um gato como animal de estimação, ter contato com gatos ou trabalhar com esses animais não constitui risco de aquisição de toxoplasmose (REIF, 1980). Além disso, o gato tem por hábito enterrar suas fezes, não deixando resquícios em seu pêlo tempo suficiente para esporular.

Geralmente gatos não têm diarreia durante o período de eliminação de oocistos. Gatos mantidos dentro de casa, que não caçam nem comem carne crua não estão expostos ao risco de adquirir infecção pelo *T.gondii*. Por outro lado, gatos sem domicílio ou que têm o hábito de sair de casa podem defecar em jardins ou em caixas de areia presentes por onde passam. Esses indivíduos podem determinar risco de infecção para as pessoas: sejam estas proprietárias de gatos ou não (JONES *et al.*, 2001). REIF (1980) afirma que é muito difícil determinar o papel direto do gato na transmissão da toxoplasmose. Seu papel indireto é viável, quer seja pela contaminação do solo com oocistos e a eventual transmissão para o homem pelo contato com o solo, quer seja pela ingestão de cistos através da cadeia alimentar.

2.10 TOXOPLASMOSE E OOCISTOS

Os gatos eliminam milhares de oocistos durante a primo-infecção; depois disto, raramente eliminarão oocistos, quando voltarem a ingerir cistos teciduais (OLIVEIRA *et al.*, 2001). Os oocistos desempenham um papel fundamental na epidemiologia da toxoplasmose. Podem persistir em solo úmido por até 12 meses, tornando-se viáveis no caso de contato com o ser humano ou com outros animais (FRENKEL, 2004), pois possuem um envoltório espesso. Medem $12 \times 10 \mu$ e cada um contém dois esporocistos com quatro esporozoítos. Estes são as formas infectantes e estão nos oocistos esporulados.

De acordo com DUMÈTRE; DARDÉ (2003), os oocistos são disseminados pelo ambiente através da água e do vento e pelos hospedeiros de transporte. Assim, a água, o solo, as frutas e os vegetais em geral, podem ser contaminados.

Embora os oocistos permaneçam no ambiente por um longo período, nem sempre é possível detectá-los. São expelidos exclusivamente por felídeos (diferentemente de outros protozoários, como *Cryptosporidium parvum* e *Giardia intestinalis*), em grandes quantidades, e por curto período de tempo: de 7 a 14 dias.

As condições ideais para que esporulem, são a uma temperatura de 20°C e umidade de 65% (LINDSAY *et al.*, 1997). O número de oocistos que podem ser identificados é muito baixo. A microscopia nem sempre é adequada e sensível à detecção.

Os oocistos são resistentes a vários processos de inativação, incluindo reagentes químicos. Permanecem viáveis em ácido sulfúrico a 2% ou em dicromato de potássio a 2,5%, por vários anos, a uma temperatura de 4°C. Também são resistentes a soluções desinfetantes, como hipoclorito de sódio. Como são resistentes a agentes químicos e físicos, oocistos infectantes do parasita podem estar presentes nos alimentos e na água (Tabela 2).

O impacto causado por oocistos na epidemiologia da toxoplasmose deve ser estudado por causa de três razões básicas: são fontes reconhecidas de toxoplasmose aguda em humanos, por contaminação do solo ou da água; podem estar relacionados com soroprevalência alta em determinadas comunidades; provavelmente são responsáveis por boa parte da infecção em animais de produção, que servirão de alimento para humanos. Embora a ingestão de cistos seja uma forma comum de contaminação por *T.gondii*, é provável que muitos oocistos esporulados sejam ingeridos na água, ou no solo (BROWN *et al.*, 2003).

DUMÈTRE; DARDÉ (2003) relatam que a porcentagem de infecção em humanos, devido à ingestão de oocistos não pode ser determinada; isto porque proprietários de gatos não estão associados com a toxoplasmose, demonstrando que a peça-chave na epidemiologia da doença está relacionada ao contato com o solo.

Atualmente não existem testes capazes de identificar a fonte de infecção da toxoplasmose em cada indivíduo: seja através de oocistos, ou de cistos. Assim, os estudos são baseados em levantamentos epidemiológicos.

TABELA 2 - DURAÇÃO DA INFECTIVIDADE DE OOCISTOS DE *T.GONDII* SOB CONDIÇÕES AMBIENTAIS (AMBIENTE FECHADO).

Temperatura (°C)	Condições	Período de sobrevivência
-20	Água	14-28 dias
0	Água	13 meses
37	Água	91(a)-306(b) dias
37	depósitos fecais	30(a)-153(b) dias
60 a 70	Água	menos de 1 minuto

Adaptado de Dumètre; Dardé, 2003.

(a = suspensões sem cobertura; b = suspensões cobertas)

Os oocistos de *T.gondii* são muito resistentes a agentes físicos, como apresenta a Tabela 2. A uma temperatura de -20°C podem sobreviver, na água, até 28 dias, e até 306 dias, a uma temperatura de 37°C . O curto período de eliminação de oocistos de *T.gondii*, por felídeos, e sua grande resistência frente a agentes potencialmente destruidores, asseguram contaminação em larga escala.

2.11 TOXOPLASMOSE E PREVENÇÃO

A prevenção da toxoplasmose só será efetiva quando os profissionais da área de saúde trabalharem informando corretamente seus pacientes e clientes (no caso da medicina veterinária). As medidas propostas devem minimizar a exposição às duas fontes principais de contaminação pelo agente: ingestão de cistos e de oocistos esporulados. Cuidados especiais devem ser dispensados às mulheres grávidas e aos pacientes imunossuprimidos (MASUR, 1990).

As medidas de prevenção mais efetivas incluem:

- Evitar atividades de jardinagem sem a utilização de luvas;
- Trocar a areia sanitária dos gatos diariamente, não permitindo que haja tempo hábil para que possíveis oocistos presentes esporulem. Os oocistos das caixas de areia poderão ser destruídos utilizando água fervendo.
- Lavar bem frutas, verduras ou legumes que serão ingeridos crus;
- Lavar bem as mãos e utensílios, após manipular carne crua;
- Evitar que gatos da casa ingiram carne crua ou mal cozida, bem como que tenham acesso à rua e cagem;
- Combater os vetores mecânicos, como moscas e baratas (McCABE; REMINGTON, 1991).

2.12 TOXOPLASMOSE E SOROLOGIA

De acordo com ARAÚJO *et al.* (1998) e REY (1991) tradicionalmente a sorologia para *Toxoplasma gondii* é o método mais utilizado para diagnóstico de toxoplasmose, devido às limitações e dificuldades inerentes às técnicas parasitológicas. Geralmente a pesquisa sorológica baseia-se na identificação de IgG específica. Entre duas a quatro semanas pós-infecção a soroconversão é iniciada com pico nos próximos trinta a quarenta e cinco dias. Os títulos podem permanecer altos por anos. Infecção recente requer verificação de aumento contínuo por um período de duas a quatro semanas.

Anticorpos IgM específicos: sua detecção tem maior valor diagnóstico porque aumenta rapidamente logo após a infecção e mantém-se elevada por um período curto; aparecem na primeira semana de infecção, com pico em até trinta dias. Na maioria dos indivíduos os títulos permanecem menores do que 1:16 após alguns meses e raramente um título baixo permanece por um ano. Um título de IgM negativo pode indicar uma infecção antiga, mas não indica infecção aguda. Título alto de IgM permite concluir infecção recente ou reativação de infecção anterior.

Anticorpos IgG específicos: infecção aguda pode ser diagnosticada pela dosagem desta imunoglobulina, através da comparação de duas amostras do paciente, tomadas com intervalo de três semanas entre elas. Como, ao final de 60 ou 90 dias pós-infecção ocorre o pico de IgG, as dosagens devem ser realizadas logo, para que o aumento de título possa ser observado.

A interpretação de resultados sorológicos requer cuidado. De acordo com MARTINS; VIANA (1998) e FRENKEL *et al.* (1987) deve-se observar que título negativo indica que não houve exposição prévia ao *T.gondii*, ou seja, uma infecção no futuro é possível. Um único título positivo pode indicar imunidade. Títulos de anticorpos em gatos com doença crônica são semelhantes aos títulos em uma população de gatos sem doença. O diagnóstico não pode ser baseado somente em uma dosagem de uma classe de imunoglobulina porque títulos de IgM e de IgG são semelhantes em gatos doentes e em assintomáticos (SPARKES *et al.*, 1993).

O aumento das taxas de título de anticorpos é lento e não está relacionado com doença aguda. Tanto a imunidade pode aparecer na ausência de anticorpos mensuráveis, como ela pode estar ausente ou diminuir na presença de anticorpos. Por exemplo: gatinhos que nascem de uma mãe que tem anticorpos, também terão anticorpos por 2 a 3 meses, pois lhes foram

transferidos passivamente, sem serem infectados, ainda que não apresentem evidência de imunidade. Títulos de anticorpos em filhotes com mais de 2 ou 3 meses de idade indicam infecção passada e persistente.

ARAÚJO *et al.* (1998) explicam que, de uma forma prática, a interpretação de resultados dos exames sorológicos em gatos deve ser:

Títulos iguais ou maiores que 1:512 pode indicar infecção ativa recente;

Títulos de 1:128 a 1:256 pode indicar infecção recente, bloqueada;

Títulos iguais ou inferiores a 1:16 ou 1:32 podem aparecer no início da doença aguda, uma vez que os títulos podem não ser detectáveis por 4 a 6 semanas após a infecção inicial.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 CARACTERÍSTICAS DOS GRUPOS ESTUDADOS

Para a realização deste trabalho, foram utilizados 145 gatos errantes, sendo 73 animais que atualmente vivem em um albergue para gatos no município de Colombo (região metropolitana de Curitiba) estado do Paraná. Os outros 72 animais habitam atualmente em domicílios de clientes da Clínica Veterinária ‘Mania de Gato’, tendo como Médica Veterinária responsável Dr^a Marúcia de Andrade Cruz, em Curitiba, e foram encaminhados por intermédio da organização não governamental (ONG) ‘Clube das Pulgas’.

Apesar de serem gatos provenientes de dois locais diferentes, apresentam características comuns, necessárias para o desenvolvimento deste projeto. São animais que viviam nas ruas e, atualmente são domiciliados. O acesso à rua dava-lhes a oportunidade de entrar em contato com oocistos de *T.gondii* e/ou cistos teciduais nos hospedeiros intermediários. Deveriam estar domiciliados para que a colheita de material (fezes e sangue) fosse possível.

3.1.1 Gatos do albergue - Grupo 1

Os animais do albergue para gatos foram apreendidos pelo Centro de Controle de Zoonoses de Curitiba e encaminhados a este local (Figuras 9, 10 e 11). Os animais são criados em recintos, sem separação por sexo, e têm acesso às ruas. As fêmeas foram submetidas à cirurgia de ovariectomia e os machos à cirurgia de orquiectomia, para que não haja o risco de aumento da população entre os habitantes do local. Os filhotes vivem separados dos adultos, também em grupos. A idade dos animais selecionados é muito variável, e não é precisa. Estimou-se a idade a partir de 2 meses até 12 anos.



FIGURA 9 - GATOS EM RECINTO DO ALBERGUE, NO MUNICÍPIO DE COLOMBO, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA-PR. MARÇO DE 2005.



FIGURA 10 – GATOS DO ALBERGUE EM GAIOLAS, NO MUNICÍPIO DE COLOMBO, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA-PR. MARÇO DE 2005.



FIGURA 11 - FILHOTES NO ALBERGUE, NO MUNICÍPIO DE COLOMBO, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA-PR. MARÇO DE 2005.

3.1.2 Gatos encaminhados pela ONG - Grupo 2

Os animais deste grupo foram adotados jovens, adultos, por encaminhamento através da organização não governamental ‘Clube das Pulgas’, que funciona como intermediária entre o gato de rua abandonado e seu futuro proprietário. As amostras de fezes selecionadas foram as dos gatos encaminhados por esta ONG, pela possibilidade de identificá-los individualmente, o que não foi possível com os gatos do albergue, pois eles vivem em grupos, em recintos com 15 a 20 animais, impossibilitando a identificação das fezes uma a uma.

Os proprietários destes gatos relataram que seus animais defecavam em caixas sanitárias por serem animais de dentro de casa.

3.2 COLHEITA DE FEZES

As amostras de fezes foram colhidas pelos proprietários dos gatos, diretamente das caixas sanitárias dos animais, e acondicionadas em recipientes plásticos, próprios para esta finalidade e identificados individualmente. Foram refrigeradas em geladeira e processadas em um período máximo de 24 horas entre a colheita do material e sua análise. O material foi processado e analisado conforme a técnica de flutuação de Willis e Mollay (EL-KOUBA, 2005) durante os meses de setembro e outubro de 2004 e março a maio de 2005. O local de

trabalho foi o Laboratório de Parasitologia, da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Centro de Ciências Agrárias e Ambientais, *Campus* de São José dos Pinhais, estado do Paraná, sob orientação do Professor Dr. Luiz Carlos Leite.

Este método foi o escolhido para realização dos exames coproparasitológicos, por ser indicado para a pesquisa de oocistos de protozoários e também por ter sido a prova viabilizada pelo Laboratório de Parasitologia da PUC-PR.

3.3 COLHEITA DE SANGUE

Para a realização dos exames de sangue (sorologia para anticorpos anti-*T.gondii*), a colheita do material foi realizada através de venopunção jugular (Figura 12) na Clínica Veterinária ‘Mania de Gato’ nos animais da ONG, e no próprio albergue, nos animais ali residentes. O material foi depositado em tubos de vidro, em temperatura ambiente, e então centrifugados a 1000 rpm por 5 minutos. O soro foi depositado em tubo Eppendorf e congelado em freezer, a -20°C . Posteriormente estas amostras foram encaminhadas (em isopor com gelo) para o Laboratório de Zoonoses da Universidade Estadual Paulista (UNESP) em Botucatu, estado de São Paulo, onde foi realizada a pesquisa de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii*, através do método de Imunofluorescência Indireta.

A colheita do sangue foi realizada, e as amostras processadas entre setembro e novembro de 2004, março a maio de 2005 e outubro a dezembro de 2005.



FIGURA 12 - VENOPUNÇÃO JUGULAR REALIZADA NO ALBERGUE PARA GATOS DO MUNICÍPIO DE COLOMBO, REGIÃO METROPOLITANA DE CURITIBA-PR, EM MARÇO DE 2005.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi aplicado teste não paramétrico (Teste do Qui-Quadrado) para comparação entre os percentuais de positividade das amostras, segundo as faixas etárias ($p < 0,01$), e quanto ao acesso ou não dos animais às ruas ($p < 0,01$), de acordo com PIMENTEL-GOMES, 2000.

4 RESULTADOS

4.1 RESULTADOS DOS EXAMES COPROPARASITOLÓGICOS

Os resultados dos exames da 72 amostras de fezes de gatos para pesquisa de oocistos de *Toxoplasma gondii* foram negativos em todas elas, ou seja: 100% das amostras analisadas através do método de flutuação de Willis e Mollay, não apresentaram oocistos do protozoário.

4.2 RESULTADOS DOS EXAMES DE SANGUE

Foram analisadas 145 amostras de sangue para pesquisa de anticorpos da classe IgG anti-*Toxoplasma gondii*. Deste total 25 animais (17,2%) foram soropositivos, sendo 12 gatos que têm acesso às ruas e 13 gatos que não têm acesso às ruas.

A frequência mais alta de reagentes (27,8%) foi observada nos gatos do grupo etário entre 10 a 12 anos. Entre os soros positivos, 1:64 foi a titulação mais frequente, presente em 14 animais, o que corresponde a 56% dos gatos (Tabela 3).

TABELA 3 - APRESENTAÇÃO DE TÍTULOS DE ANTICORPOS ANTI- *T.GONDII* EM GATOS, CONFORME A IDADE.

Grupo / idade	N	1:16	1:64	1:256	NR	Positivas
2-11 meses	25	-	-	-	25 (100%)	-
1-3 anos	30	01 (3,3%)	04 (13,3%)	-	25 (83,3%)	05 (16,7%)
4-6 anos	40	03 (7,5%)	03 (7,5%)	01 (2,5%)	33 (82,5%)	07 (17,5%)
7-9 anos	32	01 (3,1%)	04 (12,5%)	03 (9,4%)	24 (75,0%)	08 (25,0%)
10-12 anos	18	-	03 (16,7%)	02 (11,1%)	13 (72,2%)	05 (27,8%)
Total	145	05 (3,4%)	14 (9,6%)	06 (4,1%)	120 (82,7%)	25 (17,2%)

NR: Não reagentes.

Quanto ao acesso destes animais às ruas, os 72 gatos da ONG não têm esta permissão, diferentemente dos 73 gatos do Albergue, que têm liberdade para sair dos limites de onde vivem. A Tabela 4 apresenta a frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em gatos, com e sem livre acesso às ruas.

TABELA 4 - FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS DA CLASSE IGG ANTI-*TOXOPLASMA GONDII* EM GATOS COM E SEM LIVRE ACESSO ÀS RUAS. CURITIBA / PR, 2006.

Acesso às ruas	Positivos	Negativos	Total
Sim	12 (16,4%)	61 (83,5%)	73 (100%)
Não	13 (18,0%)	59 (81,9%)	72 (100%)
Total	25 (17,2%)	120 (82,7%)	145 (100%)

Os títulos de anticorpos distribuíram-se de acordo com o Gráfico 1.

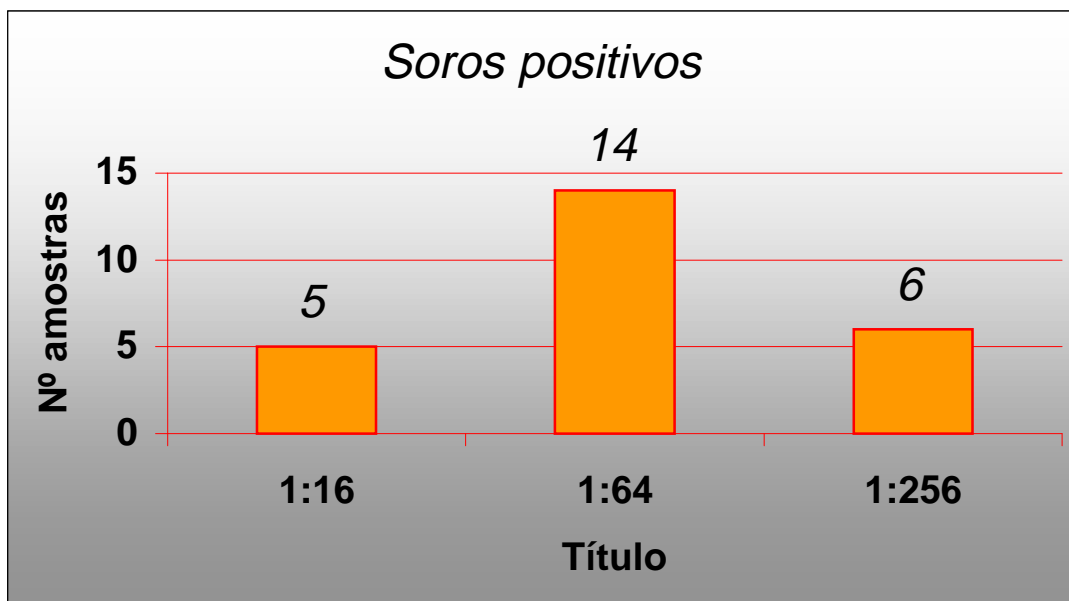


FIGURA 13 - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO DOS SOROS POSITIVOS SEGUNDO A TITULAÇÃO. CURITIBA-PR, MARÇO DE 2006.

Quanto aos títulos de anticorpos, foram considerados positivos os soros com diluição 1:16 até 1:256 (menor e maior diluições encontradas).

De acordo com a Figura 13, dos 25 soros testados para pesquisa de anticorpos imunoglobulina G anti- *T.gondii*, cinco amostras apresentaram título 1:16, quatorze amostras apresentaram título 1:64 e seis amostras apresentaram título 1:256.

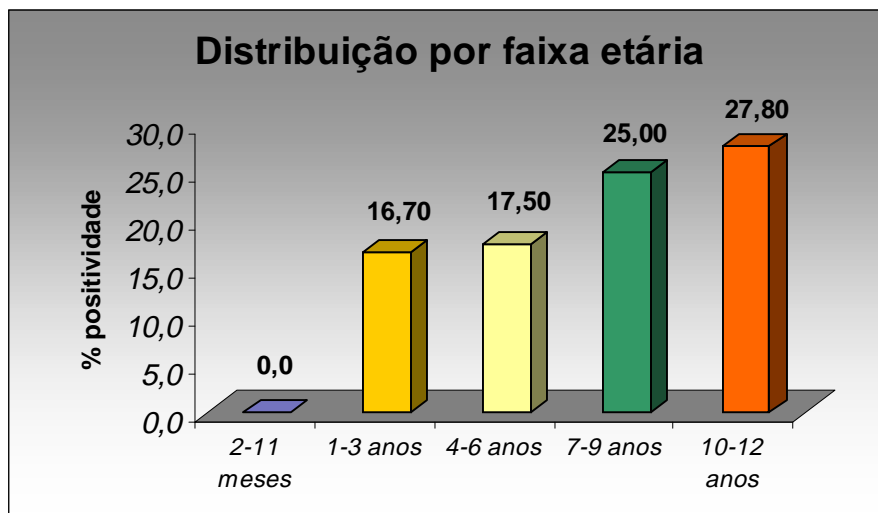


FIGURA 14 - GRÁFICO DE DISTRIBUIÇÃO DAS AMOSTRAS POSITIVAS POR FAIXA ETÁRIA DOS ANIMAIS. CURITIBA-PR, MARÇO DE 2006.

A Figura 14 apresenta a distribuição (em percentual) das amostras positivas de acordo com a faixa etária dos animais.

A análise estatística demonstrou haver diferença estatisticamente significativa entre os percentuais de positividade das amostras, segundo as faixas etárias ($p < 0,01$), com maior incidência de amostras positivas nos animais mais velhos (de sete a nove, e dez a doze anos de idade).

5- DISCUSSÃO

Embora existam vários relatos a respeito de soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em gatos, é importante a atualização de dados, especialmente por serem estes animais peças-chave na epidemiologia da doença. A pesquisa sobre a infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos muitas vezes parece não despertar grande interesse, provavelmente porque a toxoplasmose nestes animais apresenta-se como infecção latente, e sinais clínicos raramente são encontrados. Por outro lado o levantamento epidemiológico do protozoário em gatos é válido por estes animais serem os hospedeiros definitivos do parasita. Estes levantamentos são realizados com a pesquisa de oocistos em fezes de gatos e anticorpos contra *Toxoplasma gondii*. Como o período de excreção de oocistos é curto (1 a 15 dias), as taxas de prevalência nestas pesquisas são de 2% ou menos. Os testes sorológicos são mais sensíveis do que a utilização isolada do exame de fezes para determinar a infecção em gatos (NOGAMI *et al.*, 1998).

As afirmações destes autores coincidem com os resultados obtidos no presente trabalho. Nos 72 gatos encaminhados pela ONG foram realizadas as pesquisas de oocistos em fezes e de anticorpos anti-*T.gondii*. O resultado dos exames coprológicos foi 100% de amostras negativas; resultado este também encontrado por MIRÓ *et al.*, em 2004, que analisaram 382 amostras de fezes de gatos provenientes de 5 regiões da Espanha e também obtiveram resultado negativo para oocistos de *T.gondii* em todas elas.

Como 13 animais (dos 72) apresentaram sorologia positiva para IgG anti-*T.gondii*, observa-se que estes gatos tiveram contato com o protozoário em uma fase anterior à data do exame de fezes e, em alguma fase de suas vidas, eliminaram oocistos no ambiente. De acordo

com HADDADZADEH *et al.* (2006) ter um título de anticorpo para *T.gondii* geralmente significa que o período de eliminação de oocistos terminou. Animais que não apresentam soro positivo estão expostos à infecção, eliminando oocistos e, portanto, têm potencial para transmitir a infecção para seus proprietários.

A avaliação sobre a ocorrência de oocistos no ambiente é útil na determinação de estratégias de controle da doença. Porém, é necessário determinar qual a fonte de infecção mais prevalente, se é o solo, a água ou a carne, e qual o número de oocistos viáveis no ambiente sob diferentes condições climáticas e ambientais (DUMÈTRE; DARDÉ, 2003). Como o gato tem por hábito cobrir suas fezes, aumenta a sobrevivência de oocistos, uma vez que a umidade sob o solo é mais alta do que na sua superfície (FRENKEL, 2004). Na cadeia epidemiológica da toxoplasmose esta característica tem sua importância, porque os oocistos enterrados guardam sua infectividade mesmo sob condições ambientais adversas (OMATA *et al.*, 1996).

Qualquer gato é susceptível à infecção por *Toxoplasma gondii*. Gatos com menos de um ano de idade produzem maiores quantidades do parasita, e gatos que nascem e são criados em liberdade podem ser infectados com o agente assim que iniciam o carnivorismo (DORNY *et al.*, 2002). Como as fezes de filhotes entre 2 a 11 meses não foram incluídas neste estudo, as chances de encontrar oocistos do protozoário foram reduzidas. A infecção de gatos errantes inicia-se cedo e alcança 100% deles quando adultos, o que não foi observado no presente trabalho. Assim que a mãe leva a caça para seus filhotes, inicia-se este processo. Quando as condições ambientais são favoráveis e há disponibilidade de caça, a taxa de infecção depende da concentração de gatos em uma área, o que determinará o grau de saturação do solo com oocistos que hospedeiros intermediários poderão vir a ingerir. A frequência de liberação de oocistos e a quantidade liberada determinarão quantos outros animais e pessoas estarão expostos à infecção (FRENKEL *et al.*, 1987).

Em felinos a frequência de anticorpos anti-*T.gondii* é variada. Esta variação pode estar relacionada ao tipo de população estudada (LANGONI *et al.*, 2001).

No presente trabalho foram estudados dois grupos de gatos. Um grupo com 73 animais que têm acesso às ruas e outro grupo com 72 animais que não têm acesso à rua. Ambos os grupos compreendem gatos errantes, que atualmente estão domiciliados. A dieta oferecida aos gatos e a possibilidade de acesso às ruas são fatores importantes para os resultados das

pesquisas de anticorpos anti-*T.gondii* em gatos, pois poderiam ser considerados fatores de risco relacionados à infecção pelo parasita.

Dos 73 gatos que têm acesso às ruas 16,4% (12 animais) foram soropositivos. Este resultado é inferior, quando comparado com outros autores que trabalharam com o mesmo tipo de população estudada.

GONÇALVES NETTO *et al.* (2003) na cidade de Niterói, RJ, realizaram uma pesquisa sobre a ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* e encontraram soropositividade de 19,5% dos 41 soros testados por hemaglutinação indireta.

Em São Paulo, SP, LUCAS *et al.* (1999) testaram 208 amostras e encontraram soroprevalência positiva em 29 delas (23,6%), através da prova de imunofluorescência indireta.

MIRÓ *et al.*, em 2004 desenvolveram uma pesquisa com gatos errantes, gatos domiciliados e gatos de ambiente rural, em diferentes regiões da Espanha. Os gatos errantes apresentaram 36,9% de soropositividade entre as 317 amostras testadas pelo método de imunofluorescência indireta.

Em Teerã, no corrente ano, HADDADZADEH *et al.* analisaram o soro de 50 gatos errantes, com índice de soropositividade de 90%, através do teste de imunofluorescência.

O resultado do presente trabalho foi mais baixo do que os resultados encontrados por outros autores. Esta diferença poderia ser justificada pelo fato de que os gatos do albergue têm acesso às ruas, mas não saem dos limites de seu território necessariamente para caçar. Como recebem ração, o acesso às ruas limita-se a passeios e, eventualmente, à caça, o que diminui a possibilidade de contato com o agente e, conseqüentemente, a infecção pelo parasita.

McALLISTER (2005) sugere que gatos não andem livremente pelas ruas, pois reduzindo a prevalência da doença em animais reduzirá, conseqüentemente, a prevalência em humanos. O solo contaminado pelo parasita é uma fonte permanente de infecção, ou seja, de difícil controle. A existência de terrenos onde vivem pássaros e ratos aumentará a incidência da infecção nos gatos, se estes hospedeiros intermediários servirem de alimento para os gatos. De acordo com SPARKES *et al.* (1993) a prevalência de infecção por *Toxoplasma gondii* em gatos depende da disponibilidade de presas onde os felinos vivem e de seu estilo de vida. Gatos errantes infectam-se mais do que gatos de estimação.

No presente trabalho os terrenos vazios não representaram risco de infecção maior em gatos que têm acesso a eles, quando comparados com gatos que não frequentam estes terrenos, pois os gatos domiciliados sem acesso às ruas apresentaram índice de soropositividade maior do que os animais que utilizam esses espaços abertos.

Dos 72 gatos que são domiciliados e não têm acesso às ruas, 13 deles apresentaram sorologia positiva, o que representa 18,0% dos animais.

Resultados inferiores a este são descritos por MARUYAMA *et al.*, em 2002, em diferentes cidades do Japão. Das 1447 amostras de soros de gatos domiciliados 5,4% foram positivas. O teste utilizado foi o de aglutinação por látex.

No mesmo país, em 1998 NOGAMI *et al.* testaram o soro de 800 gatos, com 6,0% de positividade, também através do teste de aglutinação por látex.

LUCAS *et al.*, em 1999, na cidade de São Paulo/SP obtiveram 11,8% de soropositividade em 85 amostras analisadas através do método de Imunofluorescência Indireta.

Apesar de, atualmente os 72 do presente trabalho serem domiciliados, foram capturados nas ruas e não é possível determinar por quanto tempo permaneceram errantes, antes de serem adotados. O índice de 18,0% de amostras positivas indica que estes animais tiveram contato com o agente infeccioso e este resultado é mais alto do que os descritos pelos autores acima citados, provavelmente por terem sido errantes antes de serem domiciliados.

Em nosso país, LANGONI *et al.* (2001) desenvolveram um estudo sobre a prevalência de toxoplasmose em 191gatos e encontraram 19,4% de positividade nas amostras. O material foi proveniente de três cidades do estado de São Paulo e uma cidade do estado do Paraná.

MIRÓ *et al.* (2004) obtiveram resultado de 25,5% em 220 soros analisados por Imunofluorescência Indireta, em diferentes regiões da Espanha.

Através do método de Imunofluorescência, em 2006, HADDADZADEH *et al.* obtiveram 36% de soropositividade em gatos domiciliados.

Outros resultados de inquéritos sorológicos em gatos realizado no Brasil foram apresentados por ARAÚJO *et al.* (1998), conforme a Tabela 5.

TABELA 5 - INQUÉRITO SOROLÓGICO EM GATOS EM DIFERENTES ESTADOS DO BRASIL.

Localidade	Teste sorológico	N.animais	% Positivos	Referência
São Paulo	SF	130	50,8	Sogorb et al. (1972)
Amapá/Rondônia	HAI	32	90,6	Ferrarone &Marzochi (1978)*
Rio Grande do Sul	HAI	100	24,0	Mendez (1983)*
Rio Grande do Sul	HAI	27	40,7	Chaplin & Silva (1984)
São Paulo	RIFI	27	25,9	Rosa et al. (1987)
São Paulo	RIFI	350	37,7	Camargo et al. (1998)
São Paulo e Paraná	RIFI	191	19,4	Langoni et al. (1998)

* Citados por VIDOTTO (1992). Adaptado de ARAÚJO *et al.*, 1998.

Os dados contidos nesta tabela não esclarecem a respeito do perfil da população felina estudada, nem há referência sobre estas informações descritas no trabalho. Pode-se notar, porém, que a soroprevalência é variável, assemelhando-se aos índices apresentados anteriormente: seja de gatos domiciliados ou não. Os testes utilizados foram: SF=Reação de Sabin Feldman; HAI=Hemaglutinação indireta; RIFI= Reação e Imunofluorescência Indireta.

A Tabela 6 reúne os dados de autores citados neste trabalho, que estudaram gatos não domiciliados e a Tabela 7 apresenta os dados de autores citados neste trabalho, que estudaram gatos domiciliados.

TABELA 6 - DADOS DE DIFERENTES AUTORES QUE TRABALHARAM COM GATOS NÃO DOMICILIADOS.

AUTORES	N	LOCALIDADE	AMOSTRAS POSITIVAS	TESTE
G. NETTO <i>et al.</i> , 2003	41	Niterói /RJ	19,5%	HI
LUCAS <i>et al.</i> , 1999	123	São Paulo / SP	23,6%	RIFI
MIRÓ <i>et al.</i> , 2004	317	Espanha	36,9%	RIFI
HADDADZADEH <i>et al.</i> , 2006	50	Teerã	90%	IFA

HI= Hemaglutinação indireta / RIFI= Imunofluorescência Indireta / IFA= Imunofluorescência

N=Número de animais

TABELA 7 - DADOS DE DIFERENTES AUTORES QUE TRABALHARAM COM GATOS
DOMICILIADOS

AUTORES	N	LOCALIDADE	AMOSTRAS POSITIVAS	TESTE
MARUYAMA <i>et al.</i> ,2002	1447	Japão	5,4%	Aglutinação por látex
NOGAMI <i>et al.</i> ,1998	800	Japão	6,0%	Aglutinação por látex
LUCAS <i>et al.</i> ,1999	85	São Paulo / SP	11,8%	RIFI
LANGONI <i>et al.</i> ,2001	191	Paraná e São Paulo	19,4%	RIFI
MIRÓ <i>et al.</i> ,2004	220	Espanha	25,5%	RIFI
HADDADZADEH <i>et al.</i> ,2006	50	Teerã	36,0%	IFA

RIFI= Imunofluorescência Indireta / IFA= Imunofluorescência

De acordo com NOGAMI *et al* (1998) a prevalência da toxoplasmose aumenta conforme a idade do animal. No presente trabalho a variável idade exerceu influência nos resultados obtidos. Os animais mais velhos, de 7 a 9 anos e de 10 a 12 anos, apresentaram soropositividade mais alta: 24,0% e 27,8% respectivamente, do total das 145 amostras analisadas.

Gatos que têm acesso às ruas têm maior possibilidade de caçar pequenos animais, aumentando as chances de contato com o *Toxoplasma gondii*, quando comparados a gatos que não têm acesso às ruas. Estes são domiciliados e, na maioria das vezes, alimentam-se com ração comercial (GONÇALVES NETTO *et al.*, 2003).

GARCIA *et al.*, em 1999 afirmaram que este fato é justificável pela probabilidade maior de animais mais velhos terem contato prévio com o protozoário. Isto induziria à formação de anticorpos: primeiramente os da classe IgM e mais tarde os da classe IgG. Este último permanece por toda a vida, o que torna mais fácil a detecção nestes animais.

Em relação às caixas sanitárias, sabe-se que são altamente recomendáveis, pois limitam o espaço para o gato defecar evitando a contaminação do solo pela liberação de oocistos no ambiente, se considerarmos um gato infectado por *Toxoplasma gondii*. A limpeza diárias das fezes é necessária, bem como a troca periódica da areia utilizada.

Como as amostras de fezes foram negativas para oocistos de *Toxoplasma gondii*, e como todas foram colhidas das caixas sanitárias, pode-se inferir que estas caixas não representaram risco de contaminação para os proprietários dos gatos, por ocasião da realização dos exames coprológicos. Para maior segurança destes indivíduos, recomenda-se a realização

de exames periódicos em seus animais, para que dados como estes possam ser constantemente atualizados. Se os animais não forem alimentados com carne crua ou mal cozida, alimentarem-se exclusivamente de ração comercial e não tiverem acesso às ruas para caçarem, dificilmente estes resultados serão diferentes no futuro.

O fato dos dois grupos apresentarem índices de soroconversão semelhantes (16,4% no grupo de 73 gatos e 18,0% no grupo de 72 gatos) demonstra que ambos foram expostos aos mesmos fatores de risco quando filhotes, provavelmente com o início do carnivorismo. Fatores de risco na fase adulta não parecem estar relacionados com o acesso às ruas.

Os gatos que apresentaram titulação provavelmente tiveram contato com o agente em uma fase de suas vidas enquanto eram errantes. Proprietários de gatos com sorologia positiva possuem um animal mais apropriado para o convívio com mulheres gestantes ou indivíduos com comprometimento imunológico, pois, uma vez adquirida a imunidade, raramente estes gatos voltarão a eliminar oocistos (BAHR; MORAIS, 2001).

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos e dos fatos verificados, pode-se concluir que:

Das 72 amostras de fezes examinadas para oocistos de *Toxoplasma gondii*, 100% tiveram resultado negativo, ou seja, não apresentaram oocisto do protozoário.

Este resultado reforça a informação de que é difícil detectar oocistos deste parasita em fezes de gatos, pois os oocistos são eliminados por estes animais por um curto período de tempo, que é de 1 a 5 dias. É difícil coincidir esta fase com a data de realização dos exames coprológicos. Por isso este exame isolado não é conveniente para efeitos de diagnóstico ou de levantamento epidemiológico.

Na fase em que foram realizados os exames coprológicos as caixas de areia não representaram risco de contaminação por *Toxoplasma gondii* para os proprietários dos gatos, pois as amostras de fezes não continham oocistos do parasita.

Das 145 amostras de sangue analisadas por Imunofluorescência Indireta para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, 17,2% foram positivas. Este resultado, quando comparado com outros trabalhos prova que os índices de soropositividade em gatos são bastante variáveis pois fatores como tipo de população estudada, incluindo hábitos alimentares, acesso à rua, animais domiciliados ou não, influenciam nas análises das amostras.

Dos 73 gatos que têm acesso às ruas 16,4% foram positivos. Este índice é menor quando comparado com outros autores, provavelmente porque os animais têm acesso às ruas, mas não necessariamente para caçar, pois também alimentam-se de ração, por viverem em um albergue para gatos.

Dos 72 gatos que não têm acesso às ruas 18,0% foram positivos. Este resultado é mais alto do que a maioria dos autores pesquisados. A hipótese é a de que, como antes de serem domiciliados os gatos eram errantes e precisavam caçar para sobreviver, entraram em contato com o *Toxoplasma gondii* e desenvolveram a infecção.

A faixa etária dos gatos estudados neste trabalho foi proporcional à frequência de soropositividade: índice mais alto (27,8%) em gatos com idade a partir de 10 anos, pois animais mais velhos estão mais expostos ao agente infeccioso e induziria à formação de anticorpos.

A análise estatística demonstrou que os fatores de risco na fase adulta não parecem estar relacionados com o acesso às ruas ($p < 0,01$).

REFERÊNCIAS

- AJZENBERG, D.; COGNÉ, N.; PARIS, L.; BESSIÈRES, M.H.; THULLIEZ, P.; FILISETTI, D.; PELLOUX, H.; MARTY, P.; DARDÉ, M.L. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 186, p. 684-649, 2002.
- ARAÚJO, W.N.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. **Toxoplasmose: uma zoonose – realidades e riscos**, 1998. Disponível em: <www.bichoonline.com.br/artigos/cgao00.htm>. Acesso em: 07 maio 2006.
- ASHBURN D.; JOSS, A.W.; PENNINGTON, T.H.; HO-YEN, D.O.; Do IgA, IgE, and IgG avidity tests have any value in the diagnosis of toxoplasma infection in pregnancy? **Journal of Clinical Pathology**, London, n. 51, p.312-315, 2005.
- BAHR, S.E.; MORAIS, H.A. Pessoas imunocompetentes e animais de estimação. **Clínica Veterinária**, São Paulo. Ano 6, n. 30, p. 17-22, jan./fev. 2001.
- BARRAGAN, A.; SIBLEY, L.D. Migration of *Toxoplasma gondii* across biological barriers. **Trends in Microbiology**, Limerick, v. 11, n. 9, p. 426-430, Sep. 2003.
- BROWN, R.R.; ELSTON, T.H.; EVANS, L.; GLASER, C.; GULLEDGE, M.L.; JARBOE, L.; LAPPIN, M.R.; MARCUS, L.C. American Association of Feline Practitioners 2003. Report on Feline zoonoses. **Compendium**, Detroit, v. 25, n. 12, p.948-950. Dec. 2003.
- DAVIDSON, M.G. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 30, n. 5, p. 1051-1061, Sept. 2000.
- DIAS, R.A.F.; NAVARRO, I.T.; RUFFOLO, B.B.; BUGNI, F.M.; CASTRO, M.V.; FREIRE, R.L. *Toxoplasma gondii* in Fresh Pork Sausage and Seroprevalence in Butchers from Factories in Londrina, Paraná State, Brazil (1). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 47, n. 4, p.185-189, July/Aug. 2005.
- DORNY, P.; SPEYBROECK, N.; VERSTRAETE, S.; BAEKE, M.; BECKER, A.; BERKVEN, D.; VERCRUYSE, J. Serological survey of *Toxoplasma gondii*, feline immunodeficiency virus and feline leukaemia virus in urban stray cats in Belgium. **The Veterinary Record**, London, p. 626-629, Nov 23. 2002.
- DUBEY, J.P. Strategies to reduce transmission of *Toxoplasma gondii* to animals and humans. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, p. 65-70, 1996.
- DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, Oxon, v. 28, p. 1019-1024, 1998.
- DUBEY, J.P. Sources of *Toxoplasma gondii* infection in pregnancy. **British Medical Journal**, London, v. 321, p. 127-128, July 2000.

DUBEY, J.P. Toxoplasmosis – a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 126, p. 57-72, 2004.

DUMÈTRE, A.; DARDÉ, M.L. How to detect *Toxoplasma gondii* oocysts in environmental samples? **FEMS Microbiology Reviews**, Amsterdam, v. 27, p. 651-661, 2003.

ECKERT, J. Workshop summary: food safety: meat-and fish-borne zoonoses. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 64, p. 143-147, 1996.

EL-KOUBA, M.M.A.N. **Aspectos gerais da Fasciolose e das Endoparasitoses em capivaras e ratões do banhado residentes em três parques do estado do Paraná**. Curitiba, 2005. 72 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Paraná.

FERGUSON, D.J.P. Use of molecular and ultrastructural markers to evaluate stage conversion of *Toxoplasma gondii* in both the intermediate and definitive host. **International Journal for Parasitology**, Oxon, v. 34, p. 347-360, 2004.

FORTES, E. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed. São Paulo: Ícone, 1997. p. 139-143.

FRAZÃO-TEIXEIRA, E.; OLIVEIRA, F.C.; ALMEIDA, E.S.C.; TEIXEIRA, W.L. Sensibilidade comparativa do gerbil e do camundongo inoculados com oocistos esporulados de *Toxoplasma gondii* da cepa VEG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 11, n. 2, p. 65-69, 2002.

FRENKEL, J.K.; KIER, A. B.; WAGNER, J.E.; HOLZWORTH, J.; HOLZWOTH, J. **Diseases of the Cat: medicine & surgery**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1987. v. 1, p. 359-390.

FRENKEL J.K. Toxoplasmose. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de Infectologia**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2004. v. 2, p. 1310-1325.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C.; KOBILKA, E. Soroprevalência, epidemiologia e avaliação ocular da toxoplasmose humana na zona rural de Jaguapitã (Paraná), Brasil. **Revista Panamericana de Salud Pública**, Washington, v. 6, n. 3, Sept. 1999.

GEORGI, J.R. **Parasitologia Veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1982. p.111-121.

GÓMEZ-MARÍN, J.E.; MONTOYA-DE-LONDOÑO, M.T.; CASTAÑO-OSORIO, J.C.; HEINE, F.A.; DUQUE, A.M.; CHEMLA, C.C.; AUBERT, D.; BONHOMME, A., PINON, J.M. Frequency of Specific anti-*Toxoplasma gondii* IgM, IgA and IgE in Colombian Patients with Acute and Chronic Ocular Toxoplasmosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 1, p. 89-94, Jan./Feb. 2000.

GONÇALVES NETTO, E.; MUNHOZ, A.D.; ALBUQUERQUE, G.R.; LOPES, C.W.G.; FERREIRA, A.M.R. Ocorrência de gatos soropositivos para *Toxoplasma gondii* Nicolle e

Manceaux, 1909 (Apicomplexa *Toxoplasmatinae*) na cidade de Niterói, Rio de Janeiro. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, São Paulo, v. 12, n. 4, p. 145-149, 2003.

HADDADZADEH, H.R.; KHAZRAIINIA, P.; ASLANI, M.; REZAEIAN, M.; JAMSHIDI, S.; TAHERI, M.; BAHONAR, A. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in stray and household cats in Tehran. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, 2006.

HENRIKSEN, P.; DIETZ, H.H.; HENRIKSEN, S.A. Fatal toxoplasmosis in five cats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 55, p. 15-20, 1994.

JAUREGUI L.H., HIGGINS, J.; ZARLENGA, D.; DUBEY, J.P.; LUNNEY, J.K. Development of a Real-Time PCR Assay for Detection of *Toxoplasma gondii* in Pig and Mouse Tissues. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, vol. 36, n.6, p. 2065-2071, June 2001.

JONES, J.L.; LOPEZ, A.; WILSON, M.; SCHULKIN, J.; GIBBS, R. Congenital Toxoplasmosis: A Review. CME REVIEW ARTICLE. **Obstetrical and Gynecological Survey**, Baltimore, v. 56, n. 5, p. 296-305, 2001.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Médica**. 9. ed. São Paulo: Atheneu, 1995. p.174-187.

LANGONI, H.; SILVA, A.V.; CABRAL, K.G.; CUNHA, E.L.P.; CUTOLO, A.A. Prevalência de toxoplasmose em gatos dos Estados de São Paulo e Paraná. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 38, n. 5, 2001.

LIESENFELD, O. Oral Infection of C57BL/6 Mice with *Toxoplasma gondii*: A New Model of Inflammatory Bowel Disease? **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 185, Suppl.1, p. 96-101, 2002.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 73, p. 27-33, 1997.

LUCAS, S.R.R.; HAGIWARA, M.K.; LOUREIRO, V.S.; IKESAKI, J.Y.H.; BIRGEL, E.H. *Toxoplasma gondii* Infection in Brazilian Domestic Outpatients Cats. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 221-224, July-Aug. 1999.

MARTINS, C.S.; VIANA, J.A. Toxoplasmose – o que todo profissional de saúde deve saber – Revisão. **Clínica Veterinária**, São Paulo, Ano 3, n. 15, p. 33-37, 1998.

MARUYAMA, S.; KABEYA, H.; NAKAO, R.; TANAKA, S.; SAKAI, T.; XUAN, X.; KATSUBE, Y.; MIKAMI, T. Seroprevalence of *Bartonella henselae*, *Toxoplasma gondii*, FIV and FeLV Infections in Domestic Cats in Japan. **Microbiology and Immunology**, Tokyo, v. 47, n. 2, p. 147-153, 2003.

MASUR, H. Toxoplasmose. In: WYNGAARDEN, J.B.; SMITH JR., L.H. **Tratado de Medicina Interna**. 18. ed. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara, 1990. v. 2, p.1637-1640.

McALLISTER, M. A decade of discoveries in veterinary protozoology changes our concept of “subclinical” toxoplasmosis. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 132, p. 241-247, 2005.

McCABE, R.E.; REMINGTON, J.S. *Toxoplasma gondii*. In: MANDELL, G.; DOUGLAS, R.; BENNET, J. **Enfermedades Infecciosas**. 3. ed. Buenos Aires: Editora Medica Panamericana, 1991. t. 2, p. 2219-2233.

MEDINA, H.; BARBOZA, J.M.; URDANETA, H.; RONDON, M.; JOSHI, N.V. Morphological Investigation of *Toxoplasma gondii* in Vivo by a Multiple Beam Interference Microscope. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 7, p.83-986, Oct. 2001.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Nota Técnica. **Surto de Toxoplasmose no Município de Goiânia-GO**, Fevereiro de 2006. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_toxo_corrigida.pdf>. Acesso em: 01 mar. 2006.

MIRÓ, G.; MONTOYA, A.; JIMÉNEZ, S.; FRISUELOS, C.; MATEO, M.; FUENTES, I. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 126, n. 3, p. 249-255, Dec. 2004.

MONTOYA, J.G.; LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, Boston, v. 363, p. 1965-1975, June 2004.

MOOJEN, J. Enciclopédia **Os Animais**. Rio de Janeiro: Bloch Editores, 1976. v. I.

NOGAMI, S.; MORITOMO, T.; KAMATA, H.; TAMURA, Y.; SAKAI, T.; NAKAGAKI, K.; MOTOYOSHI, S. Seroprevalence against *Toxoplasma gondii* in Domiciled Cats in Japan. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 60, n. 9, p. 1001-1004, 1998.

OLBRICH NETO, J.; MEIRA, D.A. Soroprevalência de vírus linfotrópico de células T humanas, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e toxoplasmose em gestantes de Botucatu – São Paulo – Brasil. Fatores de risco para vírus linfotrópico de células T humanas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 37, n. 1, Jan./Feb. 2004.

OLIVEIRA, A.A.; BEVILACQUA, P.D.; PINTO, P.S.A. Principais protozoários transmissíveis por produtos de origem animal. **Cadernos Técnicos de Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, n. 43, p. 5-14, 2004.

OLIVEIRA, F.C.R.; SABATINI, G. A.; COSTA, A.J. Manutenção das características biológicas do *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: *Toxoplasmatinae*) na eliminação de oocistos por gatos experimentalmente inoculados com cistos da cepa “P”. **Revista Brasileira de Ciências Veterinárias**, Niterói, v. 8, n. 1, p. 44-46, jan./abr. 2001.

OMATA, Y.; AIHARA, Y.; KANDA, M.; SAITO, A.; IGARASHI, I.; SUZUKI, N. *Toxoplasma gondii*: experimental infection in cats vaccinated with 60CO-irradiated tachyzoites. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 65, p. 173-183, 1996.

PAIXÃO, T. A.; SANTOS, R.L. Encefalite por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães. **Clínica Veterinária**, São Paulo, Ano 9, n. 48, p. 44-51, 2004.

PARMLEY, S.; SLIFER, T.; ARAUJO, F. Protective Effects of Immunization with a Recombinant Cyst Antigen in Mouse Models of Infection with *Toxoplasma gondii* Tissue Cysts. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicado, v. 185, Suppl. 1, p. 90-95, 2002.

PAULA, K.M.; VIEGAS, P.B.; SILVA, P.G. Apoptose para o Bem e para o Mal. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, João Pessoa, v. 2, n. 2, 2002.

PESSÔA, S.; MARTINS, A.V. Sporozoea– Família Sarcocystidae, Gêneros *Toxoplasma* e *Sarcocystis*. **Parasitologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. p. 252-274

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de Estatística Experimental**. 14. ed. Piracicaba: Universidade de São Paulo. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000, p.301-312.

POWELL, C.C.; BREWER, M.; LAPPIN, M.R. Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, p. 29-33, 2001.

REIF, J.S. Toxoplasmosis: Assessment of the Role of Cats in Human Infection. **Compendium Collection**, v. 2, n. 10, p. 157-162, 1980.

REY, L. **Parasitologia**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 274-285.

REY, L.C. Seroprevalence of toxoplasmosis in Fortaleza, Ceara, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, May/Jun, 1999.

SALANT, H.; SPIRA, D.T. A cross-sectional survey of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Jerusalem cats. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 124, p. 167-177, 2004.

SILVA, J.C.R.; OGASSAWARA, S.; ADANIA, C.H.; FERREIRA, F.; GENNARI, S.M.; DUBEY, J.P.; FERREIRA-NETO, J.S. Soroprevalence of *Toxoplasma gondii* in captive neotropical felids from Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 102, p. 217-224, 2001a.

SILVA, L.A.; VIEIRA, R.S.; SERAFINI, L.N.; CARLOTTI JUNIOR, C.G.; FIGUEIREDO, J.F.C. Toxoplasmose do sistema nervoso central em paciente sem evidência de imunossupressão: relato de caso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 5, p. 487-490, set./out. 2001b.

SINGH, S. Mother-to- child transmission and diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. **Indian Journal of Medical Microbiology**, Mumbai, v. 21, n. 2, p. 69-76, 2003.

SPALDING, S.M.; AMENDOEIRA, M.R.R.; RIBEIRO, L.C.; SILVEIRA, C; GARCIA, A.P.; CAMILLO-COURA, L. Estudo prospectivo de gestante e seus bebês com risco de transmissão de toxoplasmose congênita em município do Rio Grande do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v. 36, n. 4, July/Aug. 2003.

SPARKES, A.H.; WOLF, A.; WILLS, J.M. in WILLS, J.; WOLF, A. **Handbook of feline medicine**. Oxford: Pergamon Press, 1993. p. 381-382.

SZÉNÁSI, Z.; OZSVAR, Z.; NAGY, E.; JESZENSZKY, M.; SZABÓ, J.; GELLÉN, J.; VÉGH, M.; VERHOFSTEDÉ, C. Prevention of congenital toxoplasmosis in Szeged, Hungary. **International Journal of Epidemiology**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 428-435, 1997.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **International Journal for Parasitology**, Oxon, v. 30, p. 1217-1258, 2000.

TERRA – Estado de Goiás enfrenta surto de toxoplasmose. Disponível em: <<http://noticias.terra.com.br/brasil/interna/0>>. Acesso em: 01.mar.2006.

THE ENCYCLOPAEDIA of Mammals. Andrômeda Oxford Ltd., 1993.

TIZARD, I.R. **Imunologia Veterinária**. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998. p. 326-333.

WALLON, M.; LIOU, C.; GARNER, P.; PEYRON, F. Congenital toxoplasmosis: systematic review of evidence of efficacy of treatment in pregnancy. **British Medical Journal**, London, v. 318, p. 1511-1514, 1999.

ANEXO

1. Técnica para exame de fezes

O método de Willis-Mollay (1921) também tem por objetivo a pesquisa de oocistos de protozoários. O princípio desta técnica é o da flutuação: a fração coletada para exame microscópico, é a da superfície, onde a concentração de oocistos está aumentada. É um método qualitativo direto, após a concentração de fezes.

Material

- Dois gramas de fezes
- Solução saturada de NaCl (sal grosso)
- Peneira
- Copo de vidro
- Bastão de vidro
- Lâmina de vidro

A técnica consiste em:

- Homogeneizar e colocar as fezes no copo de vidro, com auxílio do bastão.
- Misturar as fezes com 20 ml da solução saturada de NaCl, com auxílio do bastão, para fluidificação.
- Filtrar a suspensão de fezes, através da peneira, recoberta com gaze.
- Passar a suspensão filtrada para um copo, até formar um menisco convexo.
- Colocar a lâmina sobre o copo, procurando fazer com que a lâmina entre em contato com o menisco convexo. Evitar bolhas de ar entre a lâmina e o líquido.
- Deixar em repouso, por 15 minutos.
- Remover a lâmina, que trará em sua face interna, uma gota pendente.
- Inverter rapidamente sua posição, para evitar a queda da gota.
- Examinar ao microscópio toda a lâmina, em zigue-zague. Objetiva 10 vezes e aumento de 100 vezes.

Segundo FERGUSON (2004), através de exame coprológico simples, como o realizado neste trabalho, existe a possibilidade de confundir a presença de oocistos de *T.gondii* (Figuras 15 e 16) com outro protozoário coccidiano. Estudos realizados com uso de imunocitoquímica mostram que, quando outros parasitas coccidianos são examinados, algumas estruturas são semelhantes entre o *Isospora felis* (Figura 17), *Isospora rivolta* e *Hammondia hammondi*.



Figura 15: Oocisto esporulado de *T. gondii* (100x) Figura 16: Oocistos não esporulados de *T. gondii* (100x)

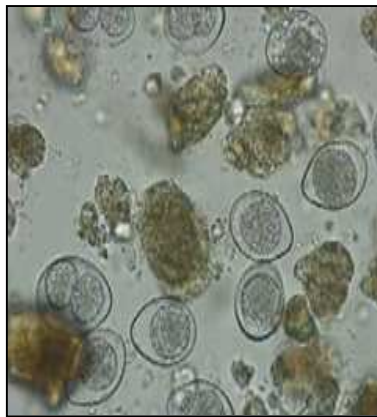


Figura 17: Oocistos de *I. felis* (400x)

Fonte Figuras 15 e 16: www.dpd.cdc.gov

Fonte Figura 17: www.vetmed.ucdavis.edu

Figuras são utilizadas como padrões de diferenciação entre oocistos dos diversos protozoários.

No caso de haver alguma amostra positiva para oocisto de protozoário, deve-se realizar o diagnóstico parasitológico através do isolamento de *Toxoplasmas*, pela inoculação do material suspeito em animais de laboratório.

De acordo com FRAZÃO-TEIXEIRA *et al.* (2002) o camundongo é usado como modelo experimental nas pesquisas sobre toxoplasmose. Estes animais possuem características físicas e biológicas que viabilizam sua utilização para este propósito.

Os camundongos são inoculados com oocistos esporulados de *Toxoplasma gondii* pela via oral e pela via intraperitonal. Animais que farão parte do grupo controle recebem, pelas mesmas vias de administração, solução salina (NaCl a 0,9%). O acompanhamento dos animais é diário, por 35 dias pós-inoculação. Alimentação e fornecimento de água são normais. Os animais que apresentam abdômen distendido (peritonite) recebem lavagens peritoniais com solução salina. O aspirado é levado ao microscópio óptico para observação e identificação de taquizoítos. Os animais controle são avaliados e considerados negativos.

2. Diagnóstico Laboratorial para Toxoplasmose

A prova de imunofluorescência indireta é uma das técnicas imunológicas para o diagnóstico de toxoplasmose. Pode ser utilizada para se verificar a prevalência de anticorpos IgM ou IgG.

2.1. Prova de imunofluorescência indireta (De acordo com material fornecido pelo laboratório de zoonoses da UNESP Botucatu).

Sensibilização de lâminas (fixação de antígeno - taquizoítos):

- A solução antigênica é obtida a partir de lavados peritoniais de camundongos, previamente inoculados intraperitonalmente com solução contendo antígeno (taquizoítos);
- Este antígeno deve ser inativado. Adiciona-se a solução antigênica a um tubo de centrífuga (50 ml) e, a este, adicionando-se, em igual volume ao da solução, formol – 0,2% (9,8 ml de solução salina + 0,2 ml de formol puro). Após, incuba-se a temperatura de 37 ° C por 30 minutos, homogeneizando, por inversão, a cada 10 minutos.

- Após esta incubação, deve-se centrifugar a 3000 rpm por 10 minutos. Retira-se o sobrenadante e, ao pellet, acrescenta-se 2 - 3 ml de PBS pH 7,2. Homogeneiza-se em vórtex e centrifuga-se novamente, a 3000 rpm por 10 minutos. Retira-se o sobrenadante e, ao pellet, adiciona-se de 1 - 2 ml, observando-se a sua concentração em lâmina. Pipeta-se 50 µl em uma lâmina e cobre-se com uma lamínula 24 x 60 mm. Deve-se ajustar a volume da solução antigênica, de modo que a sua concentração permaneça com 30 - 40 taquizoítos por campo, na avaliação microscópica.
- As lâminas, para essa prova, são compostas de duas fileiras de seis poços, fixados com antígeno. Adiciona-se a cada um dos poços 10µ da solução antigênica, espera-se de 2 – 3 minutos e, logo em seguida, retira-se o excesso, deixando-se uma fina película sobre cada poço;
- Depois de secas, as lâminas são colocadas dentro de uma caixa, que é guardada em freezer.

Material enviado:

- O material utilizado é o soro. Quando for enviado amostra de sangue, este deve ser devidamente dessorado e se for preciso centrifugado. O soro deve ser acondicionado em Eppendorf identificado.

Soro:

- O soro deve ser diluído em PBS com pH de 7,2 na proporção de 1:16, 1:64, 1:256, e assim por diante, em quantas diluições forem necessárias, sempre quadruplicando a proporção.
- Na microplaca, identificada, pipetar 150 microlitros de PBS com pH 7,2, nos compartimentos, formando uma fileira. O número de compartimentos preenchidos, é definido, de acordo com a quantidade de diluições (titulações) pretendidas;
- Adicionar ao primeiro compartimento da fileira, 10 microlitros do soro, obtendo a diluição de 1:16. Após homogeneizar, passar 50 microlitros dessa primeira diluição para o segundo compartimento, obtendo a diluição de 1:64. Fazer o mesmo procedimento para os demais compartimentos da fileira, sempre obtendo uma diluição quadruplicada. Ao final, no último compartimento, desprezar 50 microlitros deste, após a homogeneização;
- Na mesma microplaca, fazer o mesmo esquema para o controle positivo e para o controle negativo, pipetando 10 microlitros de soro sabidamente positivo e 10 microlitros de soro sabidamente negativo, respectivamente. Proceder as com as diluições;
- Na lâmina fixada com o antígeno, distribuir 10 microlitros de cada diluição do soro nos poços, em fileira, ordenados em forma crescente de diluição, pipetando

inversamente, ou seja, da maior diluição para a menor, protocolando o esquema adotado. Fazer o mesmo com o controle positivo e o negativo;

- A lâmina deve ser incubada em estufa a 37°C, em câmara úmida por 30 minutos. Após, fazer de 2 a 3 lavagens em PBS de pH 7,2 por 10 minutos cada. Primeiro, escorrer a lâmina com a solução e depois colocar em uma cuba contendo a solução por 10 min., após o tempo, desprezar o conteúdo da cuba e preenchê-la novamente com a solução, deixando por mais 10 min.;
- Preparar a solução contendo anti-anticorpo + isocianato de fluoresceína, específico para a espécie estudada, diluindo o conjugado de acordo com a especificação do fabricante, em solução previamente preparada de azul de Evans, diluída na proporção de 1:5 (1ml de azul de Evans para 4 ml de PBS com pH 7,2);
- Depois de secar a lâmina, a solução contendo o conjugado + azul de Evans é distribuído em todos os poços tratados pelo soro, controle positivo e o controle negativo, colocando 10 microlitros da solução;
- A lâmina é incubada em estufa a 37°C, em câmara úmida por 30 minutos e depois lavada em PBS de 2 a 3 vezes por 10 minutos cada, mesmo procedimento da lavagem anterior;
- Depois de seca, colocar duas gotas de solução glicerizada na lâmina e cobrir com lamínula;
- Fazer a leitura em microscópio de IF, com objetiva de 40X e ocular de 10X;
- Após a leitura dos controles, sem discordância com o resultado esperado, fazer a leitura do soro teste, considerando como ponto final de reação a mais alta diluição do soro capaz de aglutinar em 50% ou mais dos taquizoítos.

Quando examinados ao microscópio, sob iluminação adequada, os parasitas aparecerão fluorescentes (Figuras 18 e 19).

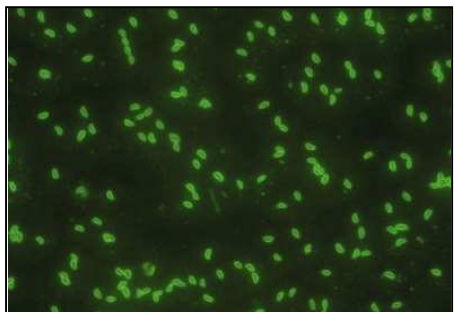


Figura 18: RIFI positiva. Microscópio de Fluorescência (OLYMPUS BX50), sob objetiva de 40x.

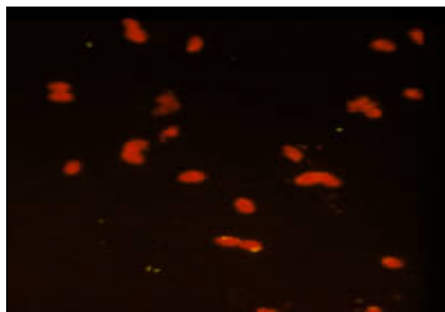


Figura 19: RIFI negativa. Microscópio de Fluorescência (OLYMPUS BX 50), sob objetiva de 40x.

Fonte: www.dpd.cdc.gov

APÊNDICES

APÊNDICE 01-	RESULTADOS DAS 145 AMOSTRAS DE SANGUE	57
APÊNDICE 02-	RESULTADOS DOS EXAMES SOROLÓGICOS E COPROPARASITOLÓGICOS	61
APÊNDICE 03-	RESULTADOS DOS EXAMES SOROLÓGICOS (ALBERGUE)	64

APÊNDICE 01

Tabela de resultados dos exames sorológicos para pesquisa de títulos de anticorpo da classe IgG anti-*Toxoplasma gondii* nas amostras testadas pela prova de imunofluorescência indireta (RIFI). Total de amostras: 145.

Nº DA AMOSTRA	IDADE DO GATO	RESULTADO
01	01 a	-
02	02 a	-
03	04 a	-
04	06 a	-
05	05 a	-
06	05 a	-
07	02 a	1:64
08	04 a	-
09	05 a	-
10	03 a	1:64
11	03 a	1:64
12	02 a	-
13	01 a	-
14	02 a	-
15	01 a	-
16	01 a	-
17	02 a	-
18	03 a	-
19	04 a	-
20	04 a	-
21	02 a	-
22	05 a	-
23	05 a	1:64
24	01 a	-
25	04 a	-
26	05 a	-
27	06 a	-
28	01 a	-
29	04 a	-
30	04 a	-
31	06 a	-
32	05 a	-
33	01 a	-
34	01 a	1:16
35	05 a	-
36	04 a	-

37	03 a	-
38	02 a	-
39	03 a	-
40	07 a	-
41	08 a	1:256
42	03 a	-
43	04 a	1:64
44	07 a	-
45	04 a	1:64
46	02 a	-
47	04 a	-
48	08 a	1:256
49	05 a	-
50	08 a	-
51	03 a	-
52	10 a	1:64
53	12 a	1:256
54	01 a	-
55	06 a	-
56	09 a	1:256
57	08 a	1:64
58	07 a	-
59	04 a	-
60	07 a	-
61	10 a	-
62	08 a	-
63	08 a	-
64	04 a	1:256
65	05 a	-
66	06 a	-
67	06 a	-
68	02 m	-
69	04 m	-
70	07 m	-
71	10 m	-
72	11 m	-
73	08 a	1:64
74	09 m	-
75	10 m	-
76	04 m	-
77	05 a	-
78	05 a	-
79	06 a	-
80	04 a	-
81	04 a	-

82	05 a	-
83	10 a	-
84	10 a	1:256
85	11 a	-
86	11 a	-
87	12 a	-
88	02 a	-
89	10 a	-
90	08 a	1:16
91	10 a	-
92	07 a	-
93	07 a	-
94	08 a	-
95	09 a	-
96	10 a	-
97	02 m	-
98	06 m	-
99	06 m	-
100	09 m	-
101	05 m	-
102	10 m	-
103	10 m	-
104	03 m	-
105	09 a	1:64
106	10 a	1:64
107	04 a	1:16
108	08 a	-
109	09 a	-
110	09 a	-
111	03 m	-
112	02 m	-
113	12 a	-
114	12 a	-
115	10 a	-
116	07 a	-
117	07 a	-
118	07 a	-
119	08 a	-
120	10 a	1:64
121	05 a	1:16
122	07 a	-
123	08 a	-
124	08 a	-
125	03 a	1:64
126	02 a	-

127	03 a	-
128	03 a	-
129	05 a	-
130	05 a	-
131	12 a	-
132	07 a	-
133	07 a	-
134	08 a	-
135	08 a	1:64
136	10 a	-
137	04 a	1:16
138	01 a	-
139	09 m	-
140	06 m	-
141	06 m	-
142	04 m	-
143	05 m	-
144	06 m	-
145	06 m	-

a = anos; m = meses

APÊNDICE 02

Tabela de resultados dos exames sorológicos e coproparasitológicos dos 72 gatos encaminhados pela Organização Não Governamental.

AMOSTRA	IDADE/ANOS	RESULTADO SOROLOGIA	RESULTADO COPROLOGIA
01	01	Negativo	Negativo
02	02	Negativo	Negativo
03	04	Negativo	Negativo
04	06	Negativo	Negativo
05	05	Negativo	Negativo
06	05	Negativo	Negativo
07	02	1:64	Negativo
08	04	Negativo	Negativo
09	05	Negativo	Negativo
10	03	1:64	Negativo
11	03	1:64	Negativo
12	02	Negativo	Negativo
13	01	Negativo	Negativo
14	02	Negativo	Negativo
15	01	Negativo	Negativo
16	01	Negativo	Negativo
17	02	Negativo	Negativo
18	03	Negativo	Negativo
19	04	Negativo	Negativo
20	04	Negativo	Negativo
21	02	Negativo	Negativo
22	05	Negativo	Negativo

23	05	1:64	Negativo
24	01	Negativo	Negativo
25	04	Negativo	Negativo
26	05	Negativo	Negativo
27	06	Negativo	Negativo
28	01	Negativo	Negativo
29	04	Negativo	Negativo
30	04	Negativo	Negativo
31	06	Negativo	Negativo
32	05	Negativo	Negativo
33	01	Negativo	Negativo
34	01	1:16	Negativo
35	05	Negativo	Negativo
36	04	Negativo	Negativo
37	03	Negativo	Negativo
38	02	Negativo	Negativo
39	03	Negativo	Negativo
40	07	Negativo	Negativo
41	08	1:256	Negativo
42	03	Negativo	Negativo
43	04	1:64	Negativo
44	07	Negativo	Negativo
45	04	1:64	Negativo
46	02	Negativo	Negativo
47	04	Negativo	Negativo
48	08	1:256	Negativo
49	08	Negativo	Negativo
50	03	Negativo	Negativo
51	10	1:64	Negativo
52	12	1:256	Negativo

53	01	Negativo	Negativo
54	06	Negativo	Negativo
55	09	1:256	Negativo
56	08	1:64	Negativo
57	07	Negativo	Negativo
58	04	Negativo	Negativo
59	07	Negativo	Negativo
60	08	Negativo	Negativo
61	08	Negativo	Negativo
62	05	Negativo	Negativo
63	06	Negativo	Negativo
64	06	Negativo	Negativo
65	05	Negativo	Negativo
66	06	Negativo	Negativo
67	04	Negativo	Negativo
68	04	Negativo	Negativo
69	05	Negativo	Negativo
70	10	Negativo	Negativo
71	08	Negativo	Negativo
72	05	Negativo	Negativo

APÊNDICE 03

Tabela de resultados de exames sorológicos dos 73 gatos do albergue.

AMOSTRA	IDADE	RESULTADO
01	10 a	Negativo
02	04 a	1:256
03	02 m	Negativo
04	04 m	Negativo
05	07 m	Negativo
06	10 m	Negativo
07	11 m	Negativo
08	08 a	1:64
09	09 m	Negativo
10	10 m	Negativo
11	04 m	Negativo
12	05 a	Negativo
13	10 a	Negativo
14	10 a	1:256
15	11 a	Negativo
16	11 a	Negativo
17	12 a	Negativo
18	02 a	Negativo
19	10 a	Negativo
20	08 a	1:16
21	10 a	Negativo
22	07 a	Negativo
23	07 a	Negativo
24	08 a	Negativo

25	09 a	Negativo
26	02 m	Negativo
27	06 m	Negativo
28	06 m	Negativo
29	09 m	Negativo
30	05 m	Negativo
31	10 m	Negativo
32	10 m	Negativo
33	03 m	Negativo
34	09 a	1:64
35	10 a	1:64
36	04 a	1:16
37	08 a	Negativo
38	09 a	Negativo
39	09 a	Negativo
40	03 m	Negativo
41	02 m	Negativo
42	12 a	Negativo
43	12 a	Negativo
44	10 a	Negativo
45	07 a	Negativo
46	07 a	Negativo
47	07 a	Negativo
48	10 a	1:64
49	05 a	1:16
50	07 a	Negativo
51	08 a	Negativo
52	08 a	Negativo
53	03 a	1:64
54	02 a	Negativo

55	03 a	Negativo
56	03 a	Negativo
57	05 a	Negativo
58	05 a	Negativo
59	12 a	Negativo
60	07 a	Negativo
61	07 a	Negativo
62	08 a	Negativo
63	08 a	1:64
64	10 a	Negativo
65	04 a	1:16
66	01 a	Negativo
67	09 m	Negativo
68	06 m	Negativo
69	06 m	Negativo
70	04 m	Negativo
71	05 m	Negativo
72	06 m	Negativo
73	06 m	Negativo

a= anos; m= meses